

# 重楼皂苷 G 通过 CIP2A/PP2A 信号通路抑制淋巴瘤细胞生长并促进凋亡及自噬的机制研究

刘雪文<sup>1,2</sup>, 向雨晨<sup>1,3</sup>, 刘洋洋<sup>1,3</sup>, 司渊<sup>1,3,4</sup>, 刘莹<sup>1,2,3,4\*</sup>, 郭阳<sup>1,2,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>湖北医药学院 基础医学院; <sup>2</sup>湖北医药学院 武当特色中药研究湖北省重点实验室;

<sup>3</sup>湖北医药学院 胚胎干细胞湖北省重点实验室; <sup>4</sup>湖北医药学院 生物医药研究院, 十堰 442000

**摘要:**为探究一种从延龄草 (*Trillium tschonoskii* Maxim) 中提取的活性化合物 polyphyllin G (PPG) 在人淋巴瘤细胞中的抑制作用及机制, 采用 CCK-8 和细胞计数测定法检测增殖抑制作用, 通过流式细胞术和蛋白印迹检测细胞凋亡、自噬及上游机制。结果显示, PPG 在 Raji 淋巴瘤细胞系中抑制生长并促进凋亡及自噬。PPG 显著下调蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子 (cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A, CIP2A) 的表达。PPG 增加了 CIP2A 下游分子蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A) 的活性, 并进而降低了 Akt 的磷酸化。进一步, PP2A 抑制剂冈田酸能够拮抗 PPG 对细胞增殖的抑制作用及对凋亡、自噬的诱导作用, 表明 PP2A 是 PPG 通过下调 CIP2A 诱导细胞凋亡及自噬的关键环节。总之, 以上结果表明, PPG 可能通过抑制 CIP2A/PP2A/Akt 信号通路抑制淋巴瘤细胞生长并促进凋亡及自噬。PPG 有望成为治疗淋巴瘤的潜在抗癌药物。

**关键词:**淋巴瘤; polyphyllin G; CIP2A; 凋亡; 自噬

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020)10-1767-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.10.019

## Polyphyllin G inhibits growth and promotes apoptosis of lymphoma cells through CIP2A/Akt signaling pathway

LIU Xue-wen<sup>1,2</sup>, XIANG Yu-chen<sup>1,3</sup>,  
LIU Yang-yang<sup>1,3</sup>, SI Yuan<sup>1,3,4</sup>, LIU Ying<sup>1,2,3,4\*</sup>, GUO Yang<sup>1,2,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>School of Basic Medical Sciences; <sup>2</sup>Hubei Key Laboratory of Wudang Local Chinese Medicine Research and Institute of Medicinal Chemistry; <sup>3</sup>Hubei Key Laboratory of Embryonic Stem Cell Research;

<sup>4</sup>Biomedical Research Institute, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China

**Abstract:** To investigate the effect and possible mechanisms of polyphyllin G (PPG), a bioactive compound extracted from the *Trillium tschonoskii* Maxim, on human lymphoma cells, the present study used CCK-8 and cell counting assays to detect the proliferation inhibition. Flow cytometric and western blot assays were performed to assess apoptosis, autophagy and investigate the mechanism. The results indicated that PPG inhibited growth, promoted apoptosis and autophagy in Raji lymphoma cells. PPG significantly down-regulated the expression of cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A (CIP2A). PPG increased the activity of protein phosphatase 2A (PP2A), a downstream molecule of CIP2A. And PP2A in turn inhibited the phosphorylation of Akt. Furthermore, the PP2A inhibitor okadaic acid antagonized the effect of PPG on cell proliferation, apoptosis, and autophagy. These results indicated that PP2A played a critical role in PPG induced apoptosis and autophagy by down-regulating CIP2A. Conclusively, the above results showed that PPG suppressed growth and promoted the apoptosis and autophagy of lymphoma cells via inhibiting CIP2A/PP2A/Akt signaling pathways. PPG is a potential anticancer drug for the treatment of lymphoma.

**Key words:** lymphoma; polyphyllin G; CIP2A; apoptosis; autophagy

收稿日期: 2020-06-28 接受日期: 2020-09-17

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (81702930); 湖北医药学院研究生启动金 (2019QDJZR16); 武当特色中药研究湖北省重点实验室开放课题 (WDCM2019008); 胚胎干细胞湖北省重点实验室开放课题 (2020ESOF007)

\* 通信作者 Tel: 86-013657193799; E-mail: guoyang\_hbmu@foxmail.com, ying\_liu1002@163.com

恶性淋巴瘤是一种具有较高异质性的肿瘤,发生在淋巴结中。由于淋巴系统遍布全身,淋巴瘤是一种全身性疾病,可影响体内几乎所有组织和器官<sup>[1]</sup>。2018年,全球约有589 530例新淋巴瘤病例和274 891例与淋巴瘤相关的死亡<sup>[2]</sup>。几乎90%的淋巴瘤病例是B细胞起源的,但是淋巴瘤也可以来源于T细胞或自然杀伤细胞<sup>[3]</sup>。目前,化学疗法,放射疗法,外周血干细胞移植,利妥昔单抗和靶向疗法均被用于治疗淋巴瘤。然而,仍有一些更具侵略性的淋巴瘤类型具有较低的存活率<sup>[4]</sup>。因此,发现新的有效治疗方法对于提高淋巴瘤患者的生存期是必要的。

蛋白磷酸酶2A (protein phosphatase 2A, PP2A) 的癌性抑制因子 (cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A, CIP2A) 是一种癌基因,可抑制 PP2A 的磷酸酶活性,进而阻遏 PP2A 对下游分子 (包括 Akt、ERK 等) 的去磷酸化,从而维持 Akt、ERK 等信号的组成性活化,而促进各种恶性肿瘤的肿瘤发生、化疗耐药、凋亡及自噬抗性、及预后不良<sup>[5-7]</sup>。我们先前曾报道,在急性髓细胞性白血病和多发性骨髓瘤中, CIP2A 的异常高表达促进预后不良<sup>[8,9]</sup>。2013年, Lilja 等<sup>[10]</sup>报道了 CIP2A 在 B 细胞淋巴瘤中的表达上调。CIP2A 在淋巴瘤中的分子生物学功能和潜在机制尚不完全清楚。因此,迫切需要进行深入研究以探索 CIP2A 作为淋巴瘤治疗靶点的可能性。

从中草药中提取的天然产物仍然是肿瘤药物发现的重要资源。延龄草 (*Trillium tschonoskii* Maxim) 属于百合科,是中国的传统中草药<sup>[11]</sup>。广泛分布在中国的西南、西北、华中等地,是武当及神农架地区四大神药之一,具有镇痛、止血、解毒等传统功效<sup>[12]</sup>。延龄草的主要活性成分之一, polyphyllin G (PPG, 图1) 是一种甾体皂苷。本文旨在探讨 PPG 在人淋巴瘤细胞中的作用及其机制。

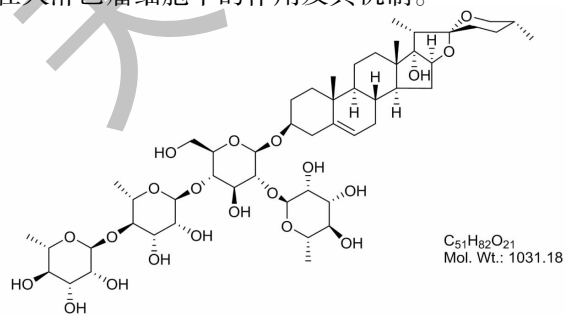


图1 重楼皂苷 G 结构图

Fig. 1 The structure of polyphyllin G

## 1 材料

### 1.1 细胞

Raji 细胞株购自 ATCC 公司。细胞在含有 10% 胎牛血清 (Hyclone) 和抗生素的 RPMI1640 培养基 (Hyclone) 中培养,并在 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 的孵箱中孵育。

### 1.2 药物及试剂

经 HPLC 测定纯度高达 95% 的 PPG (上海诗丹德标准技术服务有限公司)。PPG 溶于二甲基亚砜至 30 mmol/L 并在 -20 °C 冰箱中存储。细胞凋亡检测试剂盒 (碧云天生物技术有限公司, 产品编号: C1062M)。冈田酸 (Sigma-Aldrich, 产品编号: O9381); caspase-3 抗体 (货号 #9662)、PARP 抗体 (货号 #9542)、LC3 抗体 (货号 #12741) 均购自 Cell Signaling Technology; phospho-Akt 抗体 (Ser473, 货号 sc-7985)、Akt 抗体 (货号 sc-8312) 均购自 Santa Cruz Biotechnology; GAPDH 抗体 (Abmart, 货号 M20006); HRP-兔二抗及鼠二抗 (EarthOx 公司, 货号 E030120-01、E030110-01); Dylight 488-兔二抗 (Abbkine, 货号 #A23410)。PP2A 免疫沉淀磷酸酶检测试剂盒 (Upstate)。

## 2 方法

### 2.1 CCK-8 实验

细胞 ( $1 \times 10^4$ ) 被接种到 96 孔板, 预培养 4 h, 然后用 PPG (浓度分别为 2、3、4、6、8、10  $\mu\text{mol/L}$ ) 共孵育处理 24 h 或 48 h。采用 CCK-8 试剂盒 (日本同仁) 检测细胞毒性, 酶标仪检测在 450 nm 处的吸光度。抑制率 =  $1 - (\text{实验组 A 值} - \text{空白组 A 值}) / (\text{对照组 A 值} - \text{空白组 A 值}) \times 100\%$ 。

### 2.2 台盼蓝细胞计数实验

把细胞密度约  $2.0 \times 10^5$  cells/mL 的细胞悬液加入 12 孔板, 每孔加入 1.980 mL, 孵育 24 h, 每孔加入 20  $\mu\text{L}$  已配好 100 倍工作浓度的药物, 分别培养 12、24、48 h 后台盼蓝染色, 每组细胞平行计数 8 次, 取平均数绘制生长曲线。

### 2.3 DAPI 染色检测细胞凋亡

通过使用细胞离心涂片机将细胞接种在载玻片上, 并用 4% 多聚甲醛固定。在含 0.2% 的 Triton X-100 的 PBS 中透化后, 在含 3% BSA 的 PBS 中室温封闭, 用 PBS 漂洗  $3 \times 5$  min, DAPI 染色 (购自碧云天, 货号 C1005) 后用盖玻片封片。356 nm 紫外光为激发光, 在荧光显微镜下观察 DAPI 染色后细胞的凋亡形态并拍照。

## 2.4 Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡实验

细胞( $1.5 \times 10^5$ )被接种于6孔板,预培养4 h,然后用PPI共孵育处理24 h。收集上清液及用不含EDTA的胰酶消化细胞并收集,1 000 rpm,离心1 min,弃上清,用PBS轻轻重悬细胞洗涤两次并计数。加入100  $\mu$ L已稀释好的 $1 \times$  Annexin V-FITC结合液,轻轻重悬。加入5  $\mu$ L Annexin V-FITC,轻轻混匀。再加入10  $\mu$ L的PI染色液,轻轻混匀,置于冰浴中避光孵育15 min。用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

## 2.5 蛋白免疫印迹实验(Western blot)

收集处理后的细胞,RIPA裂解液冰浴裂解20 min后,12 000 rpm,4  $^{\circ}$ C离心10 min,取上清蛋白裂解液BCA法定测定蛋白浓度,加入对应体积的SDS震荡均匀,99  $^{\circ}$ C煮5 min使蛋白变性。SDS-PAGE电泳后,用PVDF膜进行转膜,经5%脱脂牛奶封闭,一抗4  $^{\circ}$ C孵育过夜后,用辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育1.5 h,胶片显影。

## 2.6 免疫荧光

通过使用细胞离心涂片机将细胞接种在载玻片上,并用4%多聚甲醛固定。在含0.2%的Triton X-100的PBS中透化后,在含3% BSA的PBS中室温封闭,用PBS漂洗 $3 \times 5$  min,加入LC3一抗,4  $^{\circ}$ C过夜。再用PBS漂洗 $3 \times 5$  min,Dylight 488-兔二抗室温避光孵育1.5 h。激光共聚焦显微镜下观察细胞自噬体形成并拍照。

## 2.7 PP2A 活性测定

按照PP2A免疫沉淀磷酸酶检测试剂盒说明书来测定磷酸盐的释放量作为磷酸酶活性的指标。100  $\mu$ g的细胞分离蛋白与4  $\mu$ g的抗PP2A单克隆

抗体共同孵育过夜,将40  $\mu$ L蛋白质A琼脂糖珠加入上述混合物中,4  $^{\circ}$ C孵育2 h。收集珠子,分别用700  $\mu$ L预冷TBS洗涤3次,500  $\mu$ L丝氨酸/苏氨酸检测缓冲液洗涤1次。在检测缓冲液中用750 mmol/L的磷酸肽与珠子共孵育,30  $^{\circ}$ C不断搅拌10 min。向混合物中加入100  $\mu$ L的碱式碳酸铜磷酸盐检测溶液,通过酶标仪测定其在650 nm处吸光度。

## 2.8 统计分析

所有实验至少重复三次,除非另有说明,数据结果用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。所有的统计分析都是用GraphPad Prism 8和SPSS 22.0进行。结果采用独立样本 $t$ 检验或单因素方差分析,经多重比较的 $P$ 检验, $P < 0.05$ 说明差异具有显著的统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 PPG对Raji细胞的增殖具有显著的抑制作用

通过CCK-8法检测PPG对Raji细胞增殖的影响。结果发现PPG处理24、48 h后,细胞的生长受到不同程度的抑制,PPG对Raji细胞增殖具有显著的抑制作用,并且呈一定的时间和浓度依赖性(图2A),PPG处理后Raji细胞的24 h  $IC_{50}$ 值为5.75  $\mu$ mol/L。台盼蓝拒染法检测发现,PPG在3.5  $\mu$ mol/L到4.5  $\mu$ mol/L剂量时能显著抑制Raji细胞的增殖(图1B)。总之,PPG对淋巴瘤Raji细胞的增殖具有显著的抑制作用。

### 3.2 PPG诱导Raji细胞发生凋亡及自噬

AnnexinV/FITC-PI双标法流式细胞术检测结果显示,不同浓度PPG作用Raji细胞24 h后,随着PPG浓度的增加,Raji细胞凋亡率逐渐增加(图3A-B)。同时,DAPI染色检测发现PPG处理后Raji细胞核发生皱缩,(图3C)表明发生了凋亡。进一步,

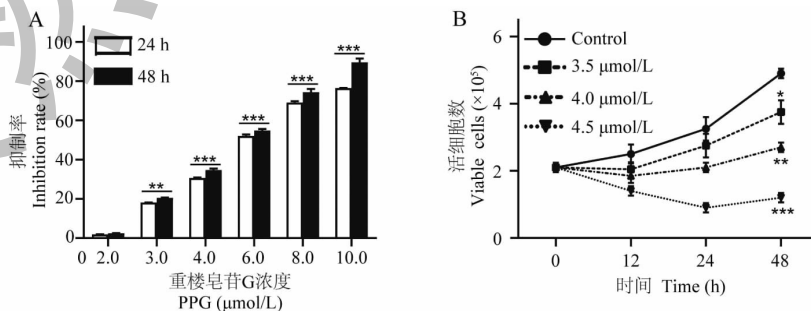


图2 PPG对Raji细胞增殖的影响

Fig. 2 Inhibitory effects of PPG on Raji cells

注:(A)CCK-8法检测PPG对Raji细胞的增殖抑制作用;(B)台盼蓝拒染法检测PPG对Raji细胞的细胞活性作用。与空白对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P < 0.001$ 。Note:(A) The inhibitory effects of PPG on Raji cells analyzed by CCK-8 assay;(B) Inhibitory effects of PPG on cell viability of Raji cells assayed by trypan blue exclusion assay. Compared with control group,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P < 0.001$ .

我们通过 Western blot 检测凋亡相关蛋白表达(图 3D),结果发现随着 PPG 药物剂量的增加, caspase-8、caspase-3 及 PARP 切割显著增加,表明 PPI 能够通过活化 caspase 而诱导 Raji 细胞发生凋亡。为了检测自噬是否也参与了 PPG 诱导的细胞死亡,我们检测了 PPG 后 Raji 细胞中自噬相关因子 LC3、Beclin 1 的表达水平。结果发现在 PPG 处理组细胞中 LC3-II 和 Beclin1 表达显著上调,这表明 PPG 促进 Raji 细胞自噬的发生(图 3E)。当自噬启动时,LC3

蛋白 C 末端被切割并且产生 LC3-II 蛋白,然后在自噬体中转移。为了进一步检测自噬体是否形成,我们通过免疫荧光检测内源 LC3,结果发现对照组细胞呈弥漫性荧光染色,PPG 处理的 Raji 细胞呈现出斑点状荧光染色(图 3F),说明 LC3 在自噬体中发生了再分配。另外,PPG 处理导致 p62 的下调(图 3E),这表明自噬体与溶酶体发生了融合。总之,以上结果表明, PPI 能在淋巴瘤 Raji 细胞中诱导 caspase 依赖的细胞凋亡和自噬。

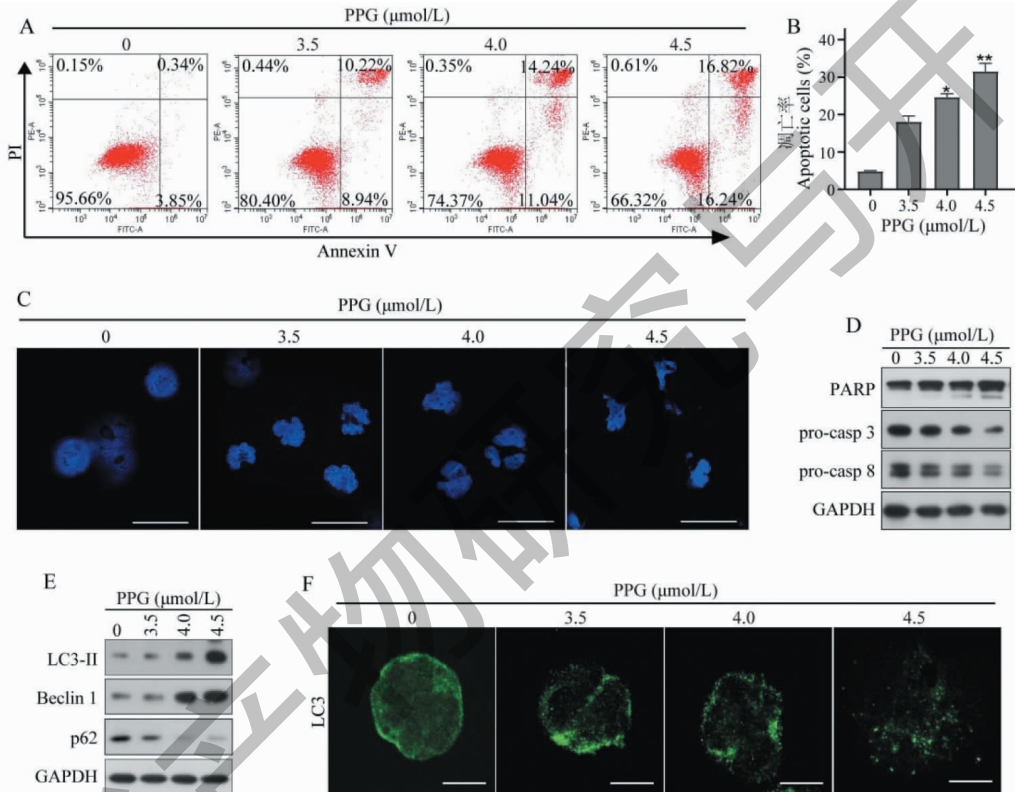


图 3 PPG 诱导 Raji 发生凋亡及自噬

Fig. 3 PPG induces apoptosis and autophagy in Raji cells

注:(A、B)不同剂量 PPG 处理 Raji 细胞 24 h,通过 AV/PI 染色和流式细胞术检测细胞凋亡;(C)用不同剂量的 PPG 处理 Raji 细胞并 24 h,通过 DAPI 染色,荧光显微镜检测细胞核形态变化;(D、E)不同剂量 PPG 处理 Raji 细胞 24 h,通过 Western blot 检测相关蛋白的表达情况;(F)不同剂量 PPG 处理 Raji 细胞 24 h,免疫荧光检测 LC3 自噬体形成情况。与 0 μmol/L PPG 组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。Note:(A, B) Raji cells were treated with different doses of PPG for 24 h, and apoptosis was detected by AV/PI staining and flow cytometry;(C) Raji cells were treated with different doses of PPG for 24 h, and DAPI staining and fluorescence microscopy were used to detect changes in nuclear morphology;(D, E) Raji cells were treated with different doses of PPG for 24 h, and the expression of apoptosis-related proteins was detected by western blot;(F) Raji cells were treated with different doses of PPG for 24 h, and immunofluorescence was used to detect the formation of LC3 autophagosomes. Compared with 0 μmol/L PPG group,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

### 3.3 PPG 下调 Raji 细胞中 CIP2A 表达而重激活 PP2A 活性

用浓度递增的 PPG 处理 Raji 细胞 24 h 后,通过 Western blot 法检测凋亡及自噬上游相关信号通路蛋白的表达变化。结果显示,PPG 下调了 CIP2A

的蛋白表达(图 4A)。CIP2A 是蛋白磷酸酶 PP2A 的内源性抑制剂,同时,肿瘤明星信号分子 Akt 的去磷酸化受到 PP2A 的广泛调节<sup>[13]</sup>。因此,我们进一步检测 PPG 对 CIP2A 的下调是否可以恢复 PP2A 活性。结果发现,PP2A 活性在用 PPG 处理的 Raji

细胞中显著上调(图 4B)。此外,PPG 亦能够下调 PP2A 下游 Akt 磷酸化(pAkt)(图 4C),表明 Akt 活

性下降。总之,以上这些结果表明 PPG 可能是通过影响下调 CIP2A 而重激活 PP2A 的磷酸酶活性。

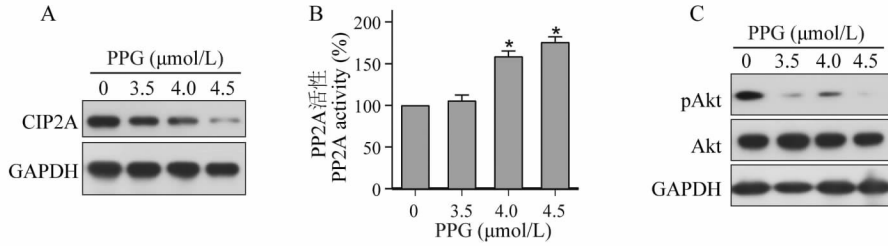


图 4 PPG 下调 CIP2A 而重激活 PP2A

Fig. 4 PPG down-regulates CIP2A and reactivates PP2A

注:(A) PPG 处理 Raji 细胞 24 h 后,Western blot 检测相关蛋白的表达;(B) PPG 处理 Raji 细胞 24 h 后,PP2A 磷酸酶活性试剂盒测定分析 PPG 处理后的 Raji 细胞中 PP2A 的活性;(C) PPG 处理 Raji 细胞 24 h 后,Western blot 检测相关蛋白的表达。与 0  $\mu\text{mol/L}$  PPG 组比较, \*  $P < 0.05$ 。Note:(A) Raji cells were treated with PPG for 24 h, the expression of related proteins was detected by Western blot;(B) Raji cells were treated with PPG for 24 h, PP2A phosphatase activity kit was used to measure and analyze the activity of PP2A;(C) Raji cells were treated with PPG for 24 h, the expression of related proteins was detected by Western blot. Compared with 0  $\mu\text{mol/L}$  PPG group, \*  $P < 0.05$ .

### 3.4 重激活 PP2A 活性是 PPG 诱导凋亡及自噬的关键环节

为了检测 PPG 诱导的 Raji 细胞凋亡及自噬是否是由 PP2A 重激活引起,我们通过 PP2A 抑制剂冈田酸(okadaic acid, OA)与 PPG 共处理检测细胞凋亡及自噬相关因子。数据表明 OA 显著逆转了由

PPG 诱导的细胞增殖抑制、细胞凋亡及自噬(图 5A 和 5B)。总之,这些结果表明 PP2A 的重激活是 PPG 通过抑制 CIP2A 来促进细胞凋亡及自噬的关键环节。因此,我们得出以下结论,PPG 在一定程度上是通过抑制 CIP2A/PP2A/Akt 信号轴来抑制淋巴瘤细胞增殖并诱导凋亡及自噬。

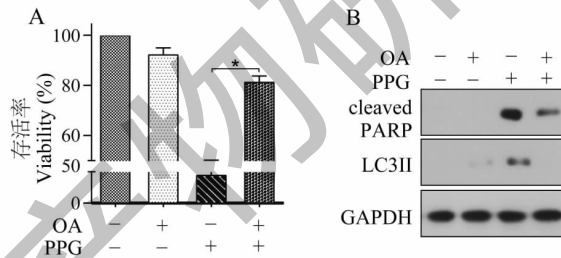


图 5 重激活 PP2A 活性是 PPG 诱导凋亡及自噬的关键环节

Fig. 5 Reactivation of PP2A activity is a key step in PPG-induced apoptosis and autophagy

注:(A) PPG(4.5  $\mu\text{mol/L}$ )和/或 OA(20 nmol/L)处理 Raji 细胞 24 h 后,CCK-8 法检测细胞生长;(B) PPG(4.5  $\mu\text{mol/L}$ )和/或 OA(20 nmol/L)处理 Raji 细胞 24 h 后,Western blot 检测相关蛋白表达。OA、PPG 共处理组与 PPG 组相比, \*  $P < 0.05$ 。Note:(A) After 24 h treatment of Raji cells with PPG (4.5  $\mu\text{mol/L}$ ) and/or OA (20 nmol/L), CCK-8 was used to detect cell growth;(B) After 24 h treatment of Raji cells with PPG (4.5  $\mu\text{mol/L}$ ) and/or OA (20 nmol/L), Western blot was used to detect the expression of related proteins. OA, PPG co-treated group compared with PPG group, \*  $P < 0.05$ .

## 4 讨论

天然中草药来源的小分子化合物一直是肿瘤药物发现的重要资源。PPG 是一种生物活性甾体皂苷,已被证明在某些肿瘤类型存在治疗效果<sup>[14,15]</sup>, 而其在淋巴瘤中的治疗作用尚无报导。本研究揭示了一种新的 PPG 抗癌机制,即通过抑制 CIP2A/PP2A/Akt 信号轴抑制淋巴瘤细胞生长及诱导凋亡。

凋亡途径的异常在血液恶性肿瘤的发生发展中起关键作用,诱导细胞凋亡亦是肿瘤治疗的重要策

略<sup>[16,17]</sup>。流式细胞术证明 PPG 能有效诱导 Raji 细胞凋亡(图 3A)。细胞凋亡伴随着多种形态学变化,例如核皱缩及形成凋亡小体。通过 DAPI 染色发现,PPG 处理后的 Raji 细胞的细胞核发生明显的皱缩(图 3C)。Caspase-3 以及 PARP 蛋白的水解(图 3D),表明 PPG 可诱导 Raji 细胞发生 caspase 介导的凋亡。自噬是 II 类程序性细胞死亡。自噬过程中,LC3II 对自噬体的形成至关重要,而 Beclin1 是促进自噬体形成的关键因子<sup>[18]</sup>。我们的结果表

明,PPG 通过上调 LC3II 和 Beclin1 表达水平而激活自噬(图 3E)。进一步,免疫荧光检测发现 PPG 促进自噬体形成(图 3F)。另外,PPG 能够下调 p62 表达(图 3E),这表明 PPG 可能通过促进自噬体与溶酶体融合而引起 p62 降解。以上表明 PPG 促进淋巴瘤细胞凋亡及自噬的发生。某些情况下,自噬抑制凋亡,是细胞的存活途径;但自噬本身也会诱发细胞死亡,或与凋亡共同作用及在凋亡缺陷的情况下作为备份机制诱导细胞死亡<sup>[19]</sup>。而 PPG 则可能引发两种通路的关联调控。

CIP2A 的过表达通常与多种人类肿瘤相关,而抑制 CIP2A 亦是肿瘤靶向治疗的新策略<sup>[20]</sup>。在本研究中,我们发现 PPG 能够在蛋白水平上引起 Raji 细胞中 CIP2A 的显著下调(图 4A)。进一步调查其下游分子 PP2A 的活性,发现 PPG 通过下调 CIP2A 重激活了 Raji 细胞中的 PP2A 磷酸酶活性,从而促进 Akt 的去磷酸化(图 4B 和 4C)。因此,PPG 可能通过下调 CIP2A 而重新激活 PP2A,进而抑制其下游重要癌性信号分子 Akt 的活性。Akt 是参与众多肿瘤细胞增殖、分化、凋亡、自噬及多药耐药的关键信号节点<sup>[21]</sup>。由此,我们提出 PPG 可能通过 CIP2A/PP2A/Akt 信号轴抑制淋巴瘤细胞生长并促进凋亡、自噬。进一步 PP2A 抑制剂 OA 可以拮抗 PPG 对淋巴瘤细胞凋亡、自噬的活化作用(图 5)。这些结果证实了 PP2A 的重激活在 PPG 下调 CIP2A 抑制淋巴瘤通路中起关键作用。

总之,本课题的研究结果为进一步深入探讨 PPG 对 CIP2A/PP2A/Akt 信号转导通路的作用机制,以及 PPG 的抗淋巴瘤作用提供了研究基础。

#### 参考文献

- Mugnaini EN, Ghosh N, Lymphoma [J]. Prim Care, 2016, 43:661-675.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68:7-30.
- Armitage JO, Gascoyne RD, Lunning MA, et al. Non-Hodgkin lymphoma [J]. Lancet, 2017, 390:298-310.
- Means RT. Lymphoma classification: morphology to molecular [J]. J Investig Med, 2020, 68:319-320.
- Ji JL, Zhen WG, Si Y, et al. Increase in CIP2A expression is associated with cisplatin chemoresistance in gastric cancer [J]. Cancer Biomark, 2018, 21:307-316.
- Zhang L, Huang QY, Wang PJ, et al. Research on the expression of CIP2A in human triple negative breast cancer and its mechanism [J]. J Hubei Univ Med (湖北医药学院学报), 2016, 35:333-337.
- Ji JL, Zhang YF, Si Y, et al. Inhibitory effect of cucurbitacin B on human cisplatin resistant gastric cancer cells and related mechanism [J]. J Hubei Univ Med (湖北医药学院学报), 2017, 36:386-390.
- Ma WJ, Xiang YC, Yang R, et al. Cucurbitacin B induces inhibitory effects via the CIP2A/PP2A/C-KIT signaling axis in t(8; 21) acute myeloid leukemia [J]. J Pharmacol Sci, 2019, 139:304-310.
- Liu XW, Cao W, Qin SS, et al. Overexpression of CIP2A is associated with poor prognosis in multiple myeloma [J]. Signal Transduct Target Ther, 2017, 2:17013.
- Lilja L, Haapasaari KM, Bloigu R, et al. Increased expression of CIP2A in aggressive subtypes of B-cell lymphoma [J]. Histopathology, 2013, 63:438-439.
- Gao JM, Xu F, Lei M, et al. Effects of *Trillium* on hydrogen peroxide-induced oxidative stress injury and inflammatory factor in PC12 cells [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29:449-453.
- Wang BL, Hao XC, Ge ZK, et al. Study on HPLC Fingerprint of *Trillium tschonoskii* Maxim [J]. J Hubei Univ Med (湖北医药学院学报), 2018, 37:225-228.
- Junttila MR, Puustinen P, Niemela M, et al. CIP2A inhibits PP2A in human malignancies [J]. Cell, 2007, 130:51-62.
- Cai XQ, Guo LL, Pei F, et al. Polyphyllin G exhibits antimicrobial activity and exerts anticancer effects on human oral cancer OECM-1 cells by triggering G2/M cell cycle arrest by inactivating cdc25C-cdc2 [J]. Arch Biochem Biophys, 2018, 644:93-99.
- Hsieh MJ, Chien SY, Lin JT, et al. Polyphyllin G induces apoptosis and autophagy cell death in human oral cancer cells [J]. Phytomedicine, 2016, 23:1545-1554.
- Wu HL, Medeiros LJ, Young KH. Apoptosis signaling and BCL-2 pathways provide opportunities for novel targeted therapeutic strategies in hematologic malignancies [J]. Blood Rev, 2018, 32:8-28.
- Liu GA, Jin YD, Ran MM, et al. Curcumin inducing apoptosis of U87 cells by promoting ROS production [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32:541-548.
- Xu HD, Qin ZH. Beclin 1, Bcl-2 and autophagy [J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1206:109-126.
- Shimizu S, Yoshida T, Tsujioka M, et al. Autophagic cell death and cancer [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15:3145-53.
- Soofiyani SR, Hejazi MS, Baradaran B. The role of CIP2A in cancer: a review and update [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 96:626-633.
- Tewari D, Patni P, Bishayee A, et al. Natural products targeting the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway in cancer: a novel therapeutic strategy [J]. Semin Cancer Biol, 2019, DOI: 10.1016/j.semcancer.2019.12.008.