

木犀草素负向调节核糖体蛋白 S12 表达抑制 MDA-MB-231 细胞增殖与侵袭

郑 媿^{1†}, 董欣敏^{1†}, 张子英², 李 华¹, 白喜玲¹, 张 剑^{3*}

¹内蒙古医科大学附属人民医院, 呼和浩特 010010; ²内蒙古医科大学基础医学院药理学学院;

³内蒙古医科大学附属医院, 呼和浩特 010050

摘要:木犀草素 (luteolin, Lut) 对多种肿瘤细胞的生长具有抑制作用, 但对乳腺癌细胞的生物学行为的影响尚不明确, 本研究旨在探讨 Lut 对乳腺癌细胞增殖与侵袭的影响及其作用机制。首先体外培养乳腺癌细胞 (MDA-MB-231 和 MCF7), 免疫印迹实验检测细胞静息状态下核糖体蛋白 S12 (ribosomal protein S12, RPS12) 表达水平。并采用 MTT 法、免疫印迹法分别测定不同浓度 Lut 处理后细胞的增殖水平, 胞内 RPS12 及 c-Myc 的表达, 以及 PI3K/Akt、mTOR 和 S6K 的磷酸化。同时采用 c-Myc 及 PI3K/Akt、mTOR 抑制剂处理组细胞, 分别检测细胞增殖水平以及细胞内 RPS12 以及 c-Myc 表达。随后构建 RPS12 启动子报告基因, 研究 Lut 对其转录的影响。最后在细胞内过表达 c-Myc, 或采用 siRNA 沉默 RPS12 表达, 检测细胞侵袭和迁移的变化。结果显示, RPS12 在乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 和 MCF7 细胞系中均呈高水平表达。采用不同浓度 Lut 处理细胞后, 其增殖均明显降低, PI3K/Akt、mTOR 及 S6K 磷酸化水平与对照组相比有所减弱, c-Myc 和 RPS12 表达也显著受到抑制, PI3K/Akt 和 mTOR 抑制剂也具有类似结果。此外, 抑制 c-Myc 后可显著降低乳腺癌细胞内 RPS12 表达以及转录活性, 但细胞过表达 c-Myc 后 RPS12 水平显著增高, 而沉默 RPS12 则可以显著抑制细胞的侵袭和迁移。以上结果表明 Lut 能够抑制乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 的增殖与侵袭, 其机制可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路进而下调 c-Myc 的表达, 最终抑制 RPS12 表达有关。

关键词:木犀草素; 糖体蛋白 S12; 乳腺癌; 细胞增殖

中图分类号: R73-3

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)7-1198-08

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.7.011

Luteolin inhibits proliferation and invasion of MDA-MB-231 cells through down-regulating the expression of ribosomal proteins S12

ZHENG Ti^{1†}, DONG Xin-min^{1†},
ZHANG Zi-ying², LI Hua¹, BAI Xi-ling¹, ZHANG Jian^{3*}

¹The Affiliated People's Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010010, China;

²School of Pharmacology, School of Basic Medicine, Inner Mongolia Medical University;

³The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China

Abstract: Luteolin (Lut) can inhibit the growth of various tumor cells, but its effect on the biological behavior of breast cancer cells remains unclear. The purpose of this study was to investigate the effect of Lut on the proliferation and invasion of breast cancer cells and its mechanism. Firstly, breast cancer cells (MDA-MB-231 and MCF7) were cultured in vitro, and the expression levels of ribosomal protein S12 (RPS12) at resting state were detected by western blotting. MTT assay and Western blotting were also used to measure the cell proliferation, the expression of RPS12 and c-Myc, and the phosphorylation of PI3K/Akt, mTOR and S6K. At the same time, c-Myc, PI3K/Akt and mTOR inhibitors were used to detect the cell proliferation, RPS12 and c-Myc expression. Subsequently, RPS12 promoter reporter gene was constructed to study the influence of Lut

收稿日期: 2022-08-26

接受日期: 2023-03-10

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金(2020LH08041); 内蒙古医科大学博士启动金项目(NYFY BS 202136); 内蒙古自治区自然科学基金(2020LH08036); 2022 自治区卫生健康科技计划(202201363)

† 共同第一作者

* 通信作者 Tel: 86-018604886377; E-mail: zhangjian3158@126.com

on its transcription. Finally, intracellular overexpression of c-Myc or siRNA silencing of RPS12 was performed to detect changes in cell invasion and migration. The results showed that RPS12 was highly expressed in both MDA-MB-231 and MCF7 cells. After treatment with different concentrations of Lut, the cell proliferation was significantly decreased, and the phosphorylation of PI3K/Akt, mTOR and S6K were decreased. The expressions of c-Myc and RPS12 were also significantly inhibited. Similar results were also observed for treatment of PI3K/Akt and mTOR inhibitors. In addition, inhibition of c-Myc could significantly reduce the expression and transcriptional activity of RPS12 in breast cancer cells, but the expression of RPS12 was significantly increased after overexpression of c-Myc, while silence of RPS12 could significantly inhibit the invasion and migration of breast cancer cells. These results suggest that Lut can inhibit the proliferation and invasion of MDA-MB-231 breast cancer cells, and the mechanism may be mediated by the inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway, thus down-regulation of the c-Myc, and ultimately inhibiting the expression of RPS12.

Key words: luteolin; ribosomal protein S12; breast cancer; cell proliferation

木犀草素(luteolin, Lut)是一种天然黄酮类化合物,其在肝癌、乳腺癌等体内外肿瘤实验中均被证实具有较好的抗肿瘤作用^[1]。此外, Lut 在抑制不同肿瘤细胞的增殖并诱导其凋亡过程中,细胞毒性相对较低,因此是潜在的抗肿瘤药物^[2]。本课题前期实验证实 Lut 能够通过上调 PETN 表达,影响 PI3K/Akt 的活性,进而抑制乳腺癌细胞增殖。但是考虑到乳腺癌的发生发展存在多种调控机制, Lut 抑制乳腺癌细胞增殖是否还具有其他机制仍未完全明确^[3]。核糖体蛋白(ribosomal protein, RP)是核糖体的主要成分之一,参与细胞内蛋白质生物合成以及其它调节分子相关区域的转录、翻译以及细胞增殖等过程^[4]。在结直肠癌、胃癌、肝癌、食管癌中都呈不同程度的异常表达。如核糖体蛋白 S12(ribosomal protein S12, RPS12)在宫颈癌患者中高表达,而在正常组织中表达相对较低。此外, RPS12 在胃癌组织中也存在过表达,且能够促进肿瘤细胞的转移^[5]。然而, RPS12 基因在乳腺癌细胞增殖中的调控作用尚未明确。c-Myc 是核糖体合成的调节因子,通过对成纤维细胞的 cDNA 微阵列分析发现,细胞内 RPS12 的表达水平可能与 c-Myc 相关^[6]。本研究旨在探讨 c-Myc 以及 RPS12 在 Lut 抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、侵袭过程中的作用机制,以期能够为乳腺癌临床治疗中药物的开发选择提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 细胞株与实验试剂

人永生乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 和 MCF7 自中国典型培养物保存中心购买;木犀草素 Lut(纯度 $\geq 95\%$, Merck); MTT (Sigma-Adrich); pcDNA3-cMyc-HA 质粒、RPS12 siRNA(上海生物工程有限公司构建);萤光素酶报告基因质粒 pGL4.10-RPS12

(汉恒生物科技有限公司构建); PI3K/Akt、S6K、mTOR、 β -actin 抗体 (Cell Signaling); c-Myc、RPS12 抗体 (GeneTex); LY294002、雷帕霉素、10058-F4 (Sigma-Adrich)。Transwell 小室 (Corning)。

1.2 细胞培养与处理

MDA-MB-231 和 MCF7 细胞置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 5% CO_2 的恒温培养箱中,用含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养,待细胞生长密度为 80% 左右时进行如下处理:(1)采用浓度为 0 、 5 、 10 、 $20\text{ }\mu\text{mol/L}$ Lut 处理 MDA-MB-231 细胞 48 h 后收集细胞待用;(2)分别用 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ Akt 抑制剂 LY294002、 $200\text{ }\mu\text{mol/L}$ c-Myc 抑制剂 10058-F4、 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ 雷帕霉素预处理细胞后,再用 $20\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的 Lut 处理 MDA-MB-231 细胞 48 h ,然后收集细胞待用。

1.3 细胞增殖实验

将长势良好的 MDA-MB-231 细胞分别加入至 96 孔板中(5×10^4 个/mL,每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$)。按照上述条件处理好细胞,并设置 3 个复孔,细胞继续培养 24 h 。随后在每个微孔中加入 $10\text{ }\mu\text{L}$ MTT 试剂,继续置于培养箱中培养 4 h 。孵育结束后再加入 $150\text{ }\mu\text{L}$ DMSO,待其充分混匀,并于酶标仪 490 nm 处检测各组细胞的吸光度值,并计算细胞增殖率。

1.4 Western blot

收集上述处理后的细胞,提取细胞总蛋白,并用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样本中加入上样缓冲液后进行 SDS-PAGE 电泳;随后进行转膜,再将膜于 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h 。加入稀释好的 PI3K/Akt、mTOR、S6K 以及 c-Myc、RPS12 一抗 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, PBST 洗膜 2 次,然后再加入相应的二抗于室温孵育 2 h 。最后在膜上滴加 ECL 发光液,再置于显影仪中避光显影。

1.5 报告基因活性检测与转染

采用转染试剂将构建好的 pGL4.10-RPS12 荧光质粒转染至 MDA-MB-231 细胞中,并将 pGL4.10 空白质粒作为对照,均继续培养 48 h。随后于上述细胞中加入裂解液,室温孵育 15 min。孵育完成后 10 000 r/min 离心 10 min,取上清进行 RPS12 启动子报告基因活性测定。pcDNA3-cMyc-HA 过表达质粒也如上述方式进行转染。

1.6 siRNA 干扰

选择长势良好的 MDA-MB-231 细胞接种至 6 孔板中继续培养。随后将稀释好的 siRNA-RPS12 以及 siRNA-control 分别加入至 6 孔板中,继续孵育 20 h 后弃去上清,再加入新的完全培养基,继续培养 72 h 进行传代。RNA 干扰完成后通过 Western blot 检测细胞内 RPS12 的表达水平,以评估 RNA 干扰效果。

1.7 划痕实验

MDA-MB-231 细胞经过 siRNA 干扰处理后 (4×10^5 个/孔)接种于 6 孔细胞培养板。当细胞的丰度增长至视野的 95% 左右时,用无菌吸头在培养孔中画一条直线制造培养伤痕。随后用无菌 PBS 清洗细胞 2 次以去除损伤的细胞,最后加入新鲜 RPMI 1640 培养基继续于 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 24 h。培养结束后置于显微镜下拍照。

1.8 Transwell 实验

取 40 μ L 培养基稀释后的基质凝胶缓慢加至 Transwell 小室中静置均匀,24 h 后将无血清培养的 MDA-MB-231 细胞加入到 Transwell 小室上层,下层则加入含血清的完全培养基。培养箱中生长 24 h 后,将细胞固定后行苏木精-伊红染色。显微镜下对迁移的滤膜下细胞进行计数分析。

1.9 统计学分析

所有实验结果重复 3 次,并采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析。对增殖实验及蛋白表达水平实验采用 Student-*t* 检验进行分析。其中所有 *P* 值均为双侧,*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RPS12 在 NSCLC 细胞系中表达

为了研究 c-Myc 和 RPS12 之间的相关性,我们通过用免疫印记法检测了 3 种细胞内的 RPS12 的表达水平。结果显示,在人正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 细胞中,RPS12 表达水平相对较低;而在乳腺癌细胞系 MCF7 和 MDA-MB-231 细胞系中 RPS12 均

呈高水平表达(见图 1)。

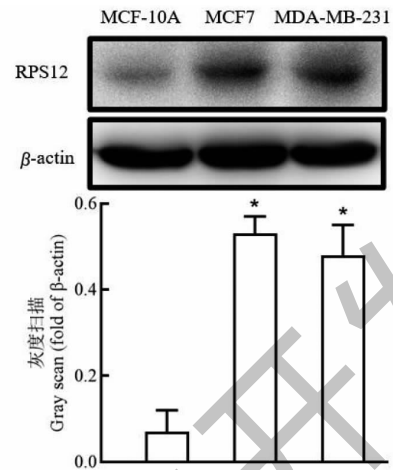


图 1 不同细胞株中 RPS12 表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 RPS12 expression level in different cell lines ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:与 MCF-10A 细胞相比,**P* < 0.05。Note: Compared with MCF-10A cells,**P* < 0.05.

2.2 Lut 对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响

MTT 结果显示,采用不同浓度的 Lut (5、10 和 20 μ mol/L) 处理 48 h 后,MDA-MB-231 细胞增殖水平显著降低。当用 10 和 20 μ mol/L Lut 处理后,细胞增殖率分别降低了 39% 和 48.7% (见图 2a)。采用 mTOR 抑制剂雷帕霉素 (rapamycin, Rap) 和 PI3K/Akt 抑制剂 LY294002 (LY) 处理后,细胞增殖水平也进一步降低 (见图 2b、2c)。表明 Lut 和 PI3K/Akt、mTOR 抑制剂均可抑制 MDA-MB-231 细胞增殖。

2.3 Lut 抑制 MDA-MB-231 细胞 PI3K/Akt/mTOR 的信号通路的活化

为了明确 Lut 抑制 MDA-MB-231 细胞增殖与 PI3K/Akt 和 mTOR 的关系,我们测定了 Lut 对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路活性的影响。免疫印迹结果显示,MDA-MB-231 细胞经 10 和 20 μ mol/L Lut 处理后,细胞内 PI3K/Akt、mTOR 和 S6K 的磷酸化水平均呈一定程度降低 (见图 3a)。采用 10 μ mol/L PI3K/Akt 抑制剂 LY294002 处理后,Akt 磷酸化水平也降低。而 10 mmol/L mTOR 抑制剂雷帕霉素对 Akt 磷酸化无明显影响,但 LY294002 和雷帕霉素均可明显抑制 mTOR 以及 S6K 的磷酸化 (见图 3b),以上结果表明 PI3K/Akt 位于 mTOR 的上游,且 Lut 处理后能抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的活化。

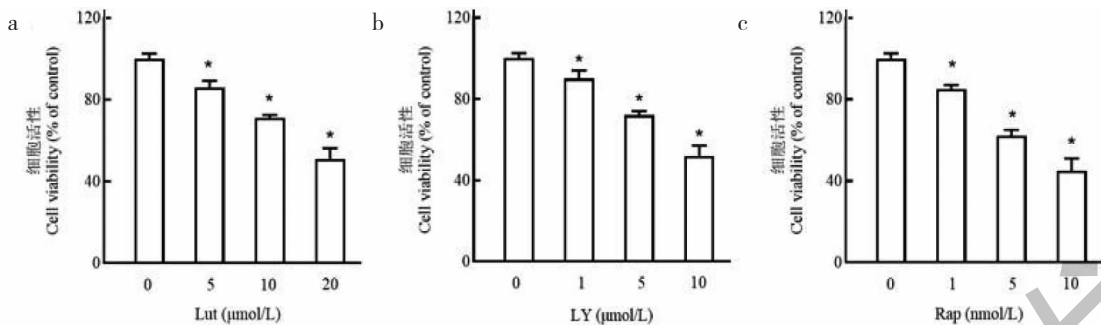


图 2 Lut 以及 c-Myc、PI3K/Akt 抑制剂对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effects of Lut, c-Myc and PI3K/Akt inhibitors on the proliferation of MDA-MB-231 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:与未处理组相比, * $P < 0.05$ 。 Note: Compared with untreated group, * $P < 0.05$ 。

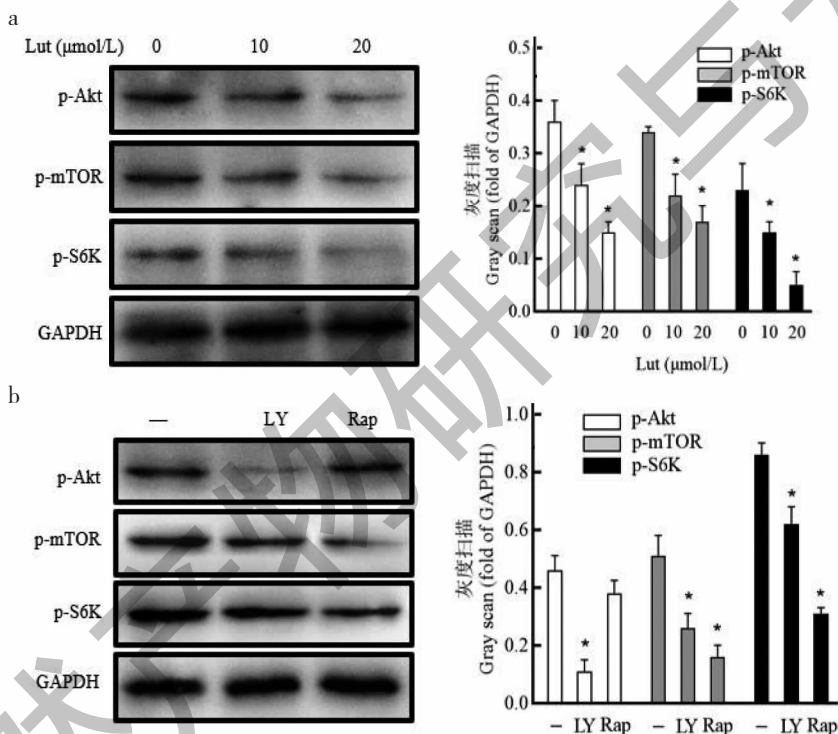


图 3 Lut 抑制 PI3K/Akt/mTOR 的信号通路活 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Lut inhibits the activation of PI3K/Akt/mTOR pathway ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:a:Lut 对 Akt, mTOR 和 S6K 磷酸化的影响;b:LY 和 Rap 对 Akt, mTOR 和 S6K 磷酸化的影响。与对照组相比, * $P < 0.05$ 。 Note: a: Effect of Lut on Akt, mTOR and S6K phosphorylation; b: Effect of LY and Rap on Akt, mTOR and S6K phosphorylation. Note: Compared with control group, * $P < 0.05$ 。

2.4 Lut 经 PI3K/Akt/mTOR 抑制 c-Myc 和 RPS12 的表达

免疫印迹结果显示,MDA-MB-231 细胞经 10 和 20 $\mu\text{mol/L}$ Lut 处理后,细胞内 c-Myc 表达水平随着浓度的增高而降低(见图 4a)。同时,Lut 也能抑制

MDA-MB-231 细胞内的 RPS12 蛋白表达(见图 4b)。且采用 10 $\mu\text{mol/L}$ LY294002 或 10 mmol/L 雷帕霉素预处理细胞后,均可下调 c-Myc 和 RPS12 的表达(见图 4c,4d)。表明 Lut 经 PI3K/Akt/mTOR 抑制 c-Myc 和 RPS12 的表达。

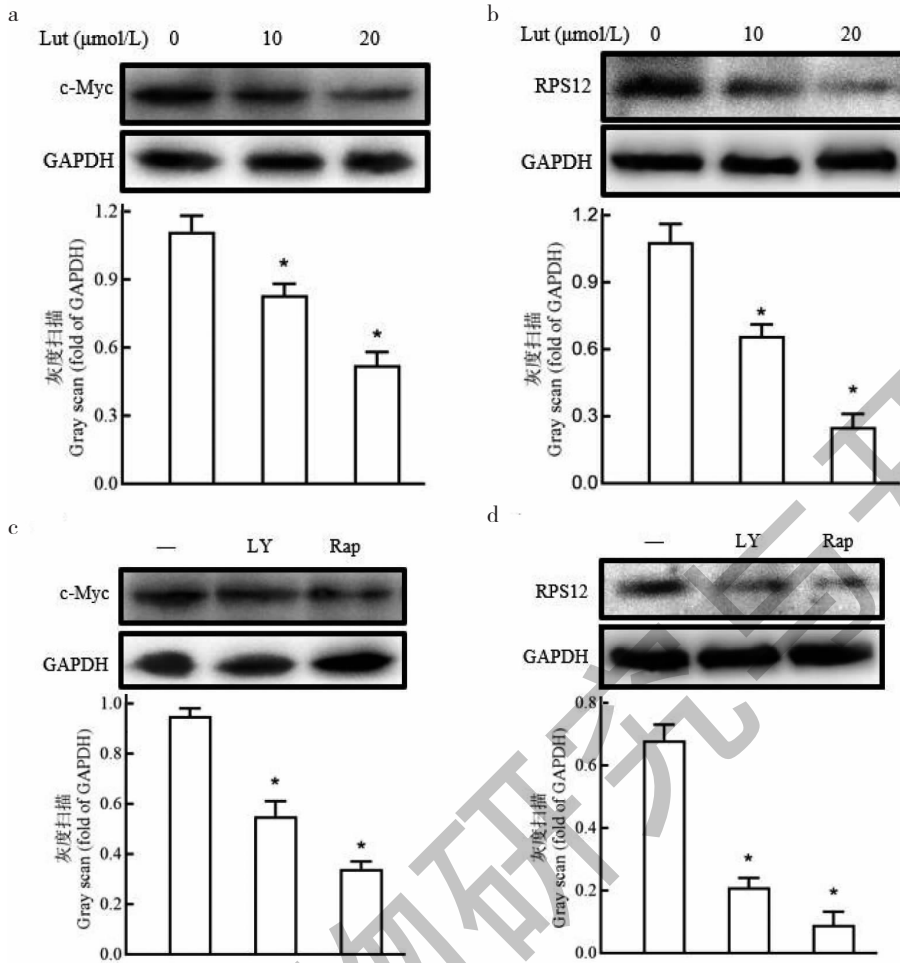


图4 Lut经PI3K/Akt/mTOR途径抑制c-Myc和RPS12表达($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Lut inhibits c-Myc and RPS12 expression via PI3K/Akt/mTOR pathway($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:a,b:Lut对c-Myc和RPS12表达的影响;c,d:LY和Rap对c-Myc和RPS12表达的影响。与对照组相比,* $P < 0.05$ 。Note:a and b:Effect of Lut on c-Myc or RPS12 expression;c and d:Effect of LY and Ra on c-Myc or RPS12 expression. Note:Compared with control group,* $P < 0.05$.

2.5 c-Myc参与调控MDA-MB-231细胞表达RPS12

为了进一步明确RPS12和c-Myc表达的关系,MDA-MB-231细胞用200 μmol/L c-Myc抑制剂10058-F4处理后,结果显示:RPS12蛋白水平出现明显降低(见图5a)。随后,我们通过转染pcDNA3-cMyc-HA质粒使得MDA-MB-231细胞内过表达c-Myc,结果显示过表达c-Myc可显著增高MDA-MB-231细胞内RPS12的表达水平(见图5b)。

2.6 Lut经c-Myc抑制RPS12转录

为了进一步明确c-Myc在转录水平对RPS12表达的影响,我们构建了含RPS12启动子序列的pGL4.10-RPS12报告基因质粒,并将其转染至MDA-MB-231细胞内(见图6a)。用10和20 μmol/

L Lut孵育后,启动子报告基因活性降低了31%和54%(见图6b)。用200 μmol/L c-Myc抑制剂10058-F4处理后,也得到了类似的效果(报告基因活性降低了64%),此外,10 μmol/L LY294002或10 nmol/L Rapamycin处理均能显著降低细胞内RPS12的转录(见图6c)。

2.7 沉默RPS12促进MDA-MB-231细胞侵袭和迁移

为了进一步明确RPS12在MDA-MB-231细胞迁移和侵袭中的作用,我们采用siRNA沉默细胞核RPS12表达后,划痕试验和Transwell实验检测细胞的侵袭和迁移水平。结果显示:沉默RPS12表达,可以显著的抑制MDA-MB-231细胞侵袭及迁移(见图7a、7b)。

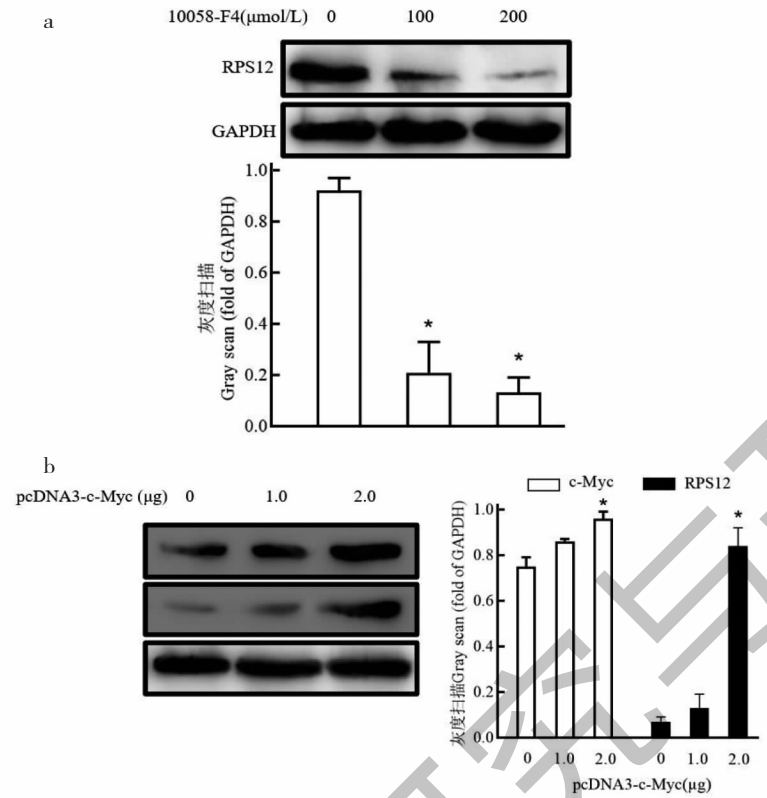


图 5 过表达 c-Myc 上调 MDA-MB-231 细胞表达 RPS12 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Overexpression of c-Myc upregulates RPS12 expression in MDA-MB-231 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:a;c-Myc 抑制剂对 RPS12 表达的影响;b:过表达 c-Myc 对 MDA-MB-231 细胞中 RPS12 表达的影响。与对照组相比, * $P < 0.05$ 。Note:a: Effect of c-Myc inhibitor on the expression of RPS12;b:Effect of over-expression of c-Myc on the expression of RPS12 in MDA-MB-231 cells. Note: Compared with control group, * $P < 0.05$.

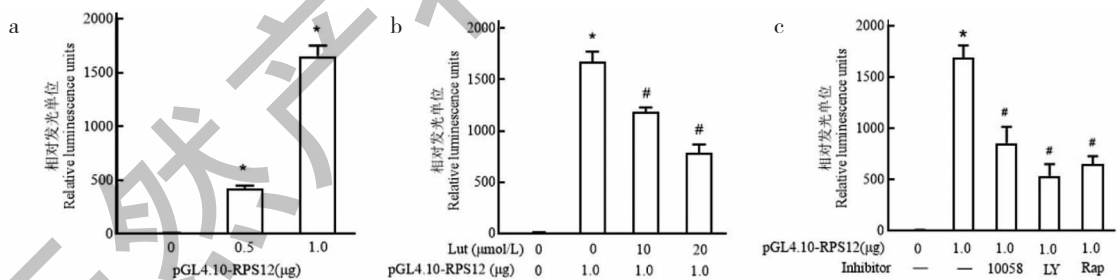


图 6 Lut 经 c-Myc 抑制 RPS12 转录 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Lut inhibits RPS12 transcription through c-Myc ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:a:MDA-MB-231 中 RPS12 报告基因过表达情况;b:Lut 对 MDA-MB-231 中 RPS12 转录活性的影响;c:LY294002 或雷帕霉素对 RPS12 转录活性的影响。与对照组相比, * $P < 0.05$ ($n = 3$);与质粒对照组相比, # $P < 0.05$ 。Note:a:Over-expression of RPS12 promoter in MDA-MB-231 cells;b:Effect of Lut on RPS12 transcriptional activity in MDA-MB-231 cells;c:Effect of LY294002 or rapamycin on RPS12 transcriptional activity.

Note:Compared with blank control, * $P < 0.05$;Compared with control plasmid, # $P < 0.05$.

3 讨论与结论

尽管近年来医疗水平飞速发展,但目前对于乳腺癌临床治疗的效果仍然不佳,其主要原因还是肿瘤的发展以及早期转移机制不明确。木犀草素 Lut

是一种天然的黄酮类化合物,其对于多种恶性肿瘤的发生发展均具有抑制作用^[7,8]。尽管本课题组前期已经证实了 Lut 对乳腺癌细胞增殖的抑制作用,但其具体的作用机制尚未明确。在本研究中,我们

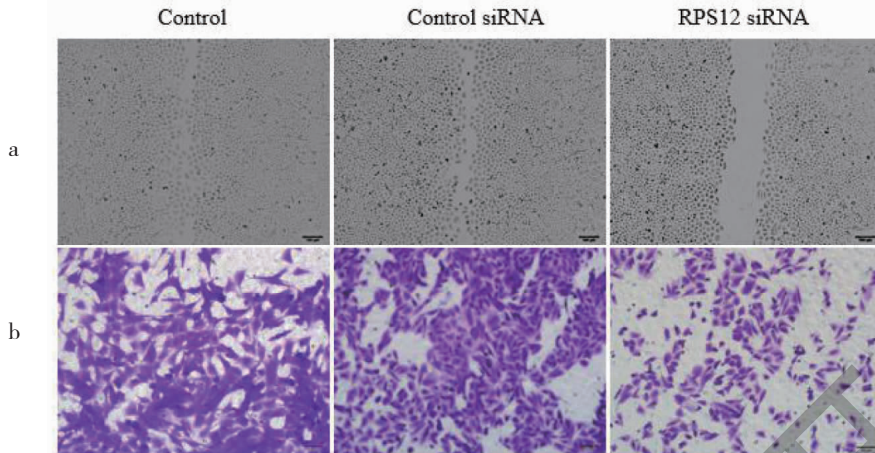


图7 沉默 RPS12 表达抑制 MDA-MB-231 细胞侵袭和迁移

Fig. 7 Silencing RPS12 expression inhibits invasion and migration of MDA-MB-231 cells

注:a:沉默 RPS12 对细胞侵袭的影响;b:沉默 RPS12 对细胞迁移的影响。Note:a Effect of silencing of RPS12 on cell invasion;b:Effect of silencing of RPS12 on cell migration.

发现 Lut 能够通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 的信号通路进而下调 c-Myc 的表达,通过负向调控 RPS12 表达水平来抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖、侵袭。这也进一步证实了 Lut 在治疗乳腺癌方面的前景。

核糖体是细胞合成蛋白质的主要细胞器,真核核糖体中约有 80 个 RPs。RPs 在多种肿瘤细胞如宫颈癌、胃癌中均存在表达异常增高,与肿瘤细胞的增殖、侵袭有关^[9]。研究表明^[10],胃癌细胞中 RPS12 表达水平明显高于正常细胞,提示 RPS12 可能参与了胃癌的发生发展。本研究发现乳腺癌细胞系中 RPS12 也呈高表达,结果与其他肿瘤一致。而采用 Lut 处理乳腺癌细胞后,RPS12 表达水平显著降低。证实 RPS12 同样也参与了 Lut 对乳腺癌细胞的调控作用。而为了进一步明确 RPS12 在乳腺癌细胞迁移和侵袭中的作用,我们又检测了沉默 RPS12 对细胞侵袭和迁移能力的影响,结果发现:沉默 RPS12 可以显著的抑制乳腺癌细胞侵袭和迁移。这也表明 RPS12 在乳腺癌中的高表达可能有助于肿瘤的发展和转移。c-Myc 基因是目前已知的一种原癌基因,其能够有效的促进细胞进行分裂、增殖,与多种恶性肿瘤的形成、发展均密切相关^[11]。研究表明,在结肠癌中,MicroRNA-184 可以通过对 c-Myc 表达水平的下调来抑制结肠癌细胞的增殖进而促进细胞凋亡^[12]。此外,c-Myc 在胃癌细胞中也具有着类似的促进细胞增殖的作用^[13]。本研究发现乳腺癌细胞系中 c-Myc 也存在着高表达,而下调 c-Myc

表达水平可进一步抑制细胞内 RPS12 的表达与转录,进而可抑制乳腺癌细胞的增殖。考虑到 c-Myc 在其它肿瘤细胞中的作用,再次证明了 Lut 可能通过影响 c-Myc/RPS12 的表达而发挥作用。

PI3K/Akt 是一种具有酶活性的细胞内信号转导通路,其能够参与肿瘤生长分化等过程^[14]。研究表明,在乳腺癌细胞增殖、迁移的过程中,PI3K/Akt 信号通路往往呈现出异常激活的状态^[15]。本研究中,采用 Akt 抑制剂 LY294002 及 mTOR 抑制剂雷帕霉素作用,均可明显地抑制 mTOR 以及 S6K 的磷酸化水平,但雷帕霉素对 Akt 磷酸化水平无明显影响,这是由于 mTOR 为 PI3K/Akt 的下游分子,因此雷帕霉素对 Akt 的磷酸化无影响。此外,PI3K/Akt 及 mTOR 抑制剂还可以显著降低细胞内 RPS12 和 c-Myc 表达,进而抑制细胞增殖。提示 RPS12 和 c-Myc 也可能作为 PI3K/Akt/mTOR 信号通路下游的作用分子,参与 Lut 对乳腺癌细胞增殖、迁移的调控作用。

综上所述,Lut 可通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路进而下调 c-Myc 的表达水平,进而负向调控 RPS12 来抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖及侵袭。提示 RPS12 和 c-Myc 可能为乳腺癌治疗的潜在靶点,Lut 可通过调控 RPS12、c-Myc 表达来发挥抗肿瘤作用。这将为临床乳腺癌的治疗方向提供新的思路。

参考文献

1 Feng GS,Li X,Zheng CS, et al. Mechanism of inhibition of

- tumor angiogenesis by *Bletilla* colloid: an experimental study [J]. *Natl Med J China* (中华医学杂志), 2003, 83:63-67.
- 2 Tang L, Zhang Y. Mitochondria are the primary target in isothiocyanate-induced apoptosis in human bladder cancer cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4:1250-1259.
 - 3 Dong XM, Zheng T, Zhang ZY, et al. Luteolin reverses OPC-ML methylation to inhibit proliferation of breast cancer MDA-MB-231 cells [J]. *J South Med Univ* (南方医科大学学报), 2020, 40:550-555.
 - 4 Brogna S, Sato TA, Rosbash M. Ribosome components are associated with sites of transcription [J]. *Mol Cell*, 2002, 10:93-104.
 - 5 Chen FW, Ioannou YA. Ribosomal proteins in cell proliferation and apoptosis [J]. *Int Rev Immunol*, 1999, 18:429-448.
 - 6 Guo QM, Malek RL, Kim S, et al. Identification of c-myc responsive genes using rat cDNA microarray [J]. *Cancer Res*, 2000, 60:5922-5928.
 - 7 Juszczak AM, Wöelfle U, Končić MZ, et al. Skin cancer, including related pathways and therapy and the role of luteolin derivatives as potential therapeutics [J]. *Med Res Rev*, 2022, 42:1423-1462.
 - 8 Hussain Y, Cui JH, Khan H, et al. Luteolin and cancer metastasis suppression: focus on the role of epithelial to mesenchymal transition [J]. *Med Oncol*, 2021, 38:66-72.
 - 9 Cheng Q, Lau WM, Tay SK, et al. Identification and characterization of genes involved in the carcinogenesis of human squamous cell cervical carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2002, 98:419-426.
 - 10 Sun XJ, Hao DM, Zheng ZH, et al. Screening and analysis of associated genes in the carcinogenesis and progression of gastric cancer [J]. *Chin J Med Genet* (中华医学遗传学杂志), 2005, 22:35-38.
 - 11 Chang DW, Claassen GF, Hann SR, et al. The c-Myc transactivation domain is a direct modulator of apoptotic versus proliferative signals [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20:4309-4319.
 - 12 Wang YB, Zhao XH, Li G, Zheng JH, Qiu W. MicroRNA-184 inhibits proliferation and promotes apoptosis of human colon cancer SW480 and HCT116 cells by downregulating C-MYC and BCL-2 [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119:1702-1715.
 - 13 Qian P, Li J, Zhang X, et al. LMX1A inhibits C-Myc expression through ANGPTL4 to exert tumor suppressive role in gastric cancer [J]. *PLoS One*, 2019, 14:e0221640.
 - 14 Li CP, Chen NY, Li XY, et al. Analysis of the potentiality of dehydroabietic acid as PI3K/AKT/mTOR signaling pathway inhibitor based on computational simulation [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2021, 33:543-553.
 - 15 Conley-LaComb MK, Saliganan A, Kandagatla P, et al. PTEN loss mediated Akt activation promotes prostate tumor growth and metastasis via CXCL12/CXCR4 signaling [J]. *Mol Cancer*, 2013, 12:85-96.