

# PML-PGC-1 $\alpha$ 轴介导线粒体代谢参与顺铂诱导的卵巢癌细胞的调节

金蕾蕾<sup>1</sup>, 陈娟<sup>1</sup>, 王换苗<sup>1</sup>, 万泉淑<sup>2</sup>

(1. 咸阳市第一人民医院妇产科; 陕西 咸阳 712000; 2. 西安高新医院妇产科, 陕西 西安 710000)

**【摘要】目的:**探讨线粒体生物合成与过氧化物酶体增殖物受体 $\gamma$ 共激活因子-1 $\alpha$ (PML-PGC-1 $\alpha$ )轴介导的线粒体代谢参与顺铂诱导的卵巢癌细胞的调节。**方法:**人卵巢癌细胞株SKOV-3分为PML-PGC-1 $\alpha$ 激活组、顺铂组对照组和激动剂对照组。顺铂组采用3.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 顺铂200  $\mu\text{L}$ 处理,PML-PGC-1 $\alpha$ 激活组采用等体积5  $\mu\text{mol}/\text{L}$  PML-PGC-1 $\alpha$ 激动剂Wy14643和顺铂处理,激动剂对照组采用等体积激动剂处理,阴性对照组采用等体积的RPMI1640培养液处理。观察三组卵巢癌细胞线粒体视学参数、 $\text{Ca}^{2+}$ 含量、琥珀酸脱氢酶(SDH)活性、PML及PGC-1蛋白表达、细胞增殖和凋亡指数及细胞周期。**结果:**处理后48 h,与对照组相比,激动剂+顺铂组、顺铂对照组、激动剂对照组的PML、PGC-1 $\alpha$ 蛋白相对表达量、细胞线粒体视学参数 $V_v$ 、 $V$ 以及 $S_v$ 值、线粒体中 $\text{Ca}^{2+}$ 含量、细胞增殖抑制率、细胞凋亡率、G0/G1期细胞百分比均显著增加,线粒体中SDH活性、S期和G2/M期细胞百分比均明显降低( $P < 0.05$ ),且与顺铂对照组和激动剂对照组相比,激动剂+顺铂组以上指标变化趋势同上( $P < 0.05$ );而前两组以上指标相比差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论:**顺铂的应用能提高卵巢癌细胞的凋亡率,抑制其增殖,可能在于PML-PGC-1 $\alpha$ 轴介导的线粒体代谢参与了顺铂诱导的卵巢癌细胞的调节。

**【关键词】** PML-PGC-1 $\alpha$ 轴;线粒体代谢;卵巢癌

**【中图分类号】** R737.31 **【文献标志码】** A

## Role of PML-PGC-1 $\alpha$ axis-mediated mitochondrial metabolism involved in cisplatin-induced ovarian cancer cells

JIN Lei-lei<sup>1</sup>, CHEN Juan<sup>1</sup>, WANG Huan-miao<sup>1</sup>, WAN Xiao-shu<sup>2</sup>

(Department of Gynaecology and Obstetrics, 1. The First People's Hospital of Xianyang, Xianyang 712000; 2. Xi'an Gaixin Hospital, Xi'an 710000, Shaanxi, China)

**【Abstract】Objective:** To investigate the role of PML-PGC-1 $\alpha$  axis-mediated mitochondrial metabolism involved in cisplatin-induced ovarian cancer cells. **Methods:** Human ovarian cancer cell line SKOV-3 was divided into three groups: PML-PGC-1 $\alpha$  activation group, cisplatin control group and the agonist control group. The cisplatin group was treated with cisplatin (3.5  $\text{g}/\text{mL}$ ) 200  $\mu\text{L}$ . The PML-PGC-1 $\alpha$  activation group was treated with the same volume 5  $\mu\text{mol}/\text{L}$  PML-PGC-1 $\alpha$  agonist Wy14643 and cisplatin. The agonist control group was treated with the same volume agonist. The negative control group was treated with the same volume RPMI1640 culture medium. Mitochondrial stereological parameters,  $\text{Ca}^{2+}$  content, succinate dehydrogenase (SDH) activity, PML and PGC-1 protein expression, cell proliferation and apoptotic index and cell cycle were observed in three groups of ovarian cancer cells. **Results:** After 48 hours, compared with the control group, the relative expression levels of PML and PGC-1 $\alpha$  protein, cell mitochondrial visual parameters  $V_v$ ,  $V$  and  $S_v$  values, the  $\text{Ca}^{2+}$  content in mitochondria, the inhibition rate of cell proliferation, apoptosis rate, and the cell percentage of G0/G1 of agonist + cisplatin group, cisplatin control group and agonist control group all increased significantly, SDH activity in mitochondria, percentage of cells in S phase and G2/M phase were significantly reduced ( $P < 0.05$ ). Compared with the cisplatin control group and the agonist control group, the changes of the above indicators in the agonist + cisplatin group were the same as above ( $P < 0.05$ ), but there was no statistically significant difference between the first two groups in the above indicators ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** The application of cisplatin can increase the apoptotic rate of ovarian cancer cells, and inhibit their proliferation, which may be due to the involvement of mitochondrial metabolism mediated by PML-PGC-1 $\alpha$  axis in the regulation of the ovarian cancer cells induced by cisplatin.

**【Key words】** PML-PGC-1 $\alpha$  axis; Mitochondrial metabolism; Ovarian cancer

卵巢癌是女性生殖系统常见三大恶性肿瘤之一,但是死亡率一直位居第一<sup>[1]</sup>。目前,卵巢癌的

首要治疗方法是手术治疗,因该病起病隐匿,早期症状体征不明显,很多患者在就诊时已至晚期,且术后

患者的复发率与转移率一直比较高,为此如何改进治疗方法为改善卵巢癌患者预后的关键<sup>[2-3]</sup>。化疗在卵巢癌治疗中最为常用,顺铂患者缓解率可达80%<sup>[4]</sup>。卵巢癌的化疗起效机制比较复杂,与药物外排能力、抗氧化能力、抗凋亡能力、损伤修复能力等因素密切相关<sup>[5-6]</sup>。线粒体生物合成与过氧化物酶体增殖物受体 $\gamma$ 共激活因子-1 $\alpha$ (PML-PGC-1 $\alpha$ )是核基因受体的一种典型的转录共激活因子,可参与调节机体的脂肪酸氧化、线粒体生物合成等,于是针对这些环节,深入探索卵巢癌化疗疗效的相关因素及机制,对寻找逆转耐药的靶点,提高卵巢癌化疗疗效具有非常重要的意义。本研究具体探讨了PML-PGC-1 $\alpha$ 轴介导的线粒体代谢参与顺铂诱导的卵巢癌细胞的调节,以期能够明确卵巢癌细胞化疗相关的机制。现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

人卵巢癌细胞株 SKOV-3 购自 ATCC,置于含100 U/mL 青链霉素、10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液中,在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养,2~3 d 传代培养 1 次。所有一抗均购于美国 Santa Cruz 公司、胎牛血清、RPMI 1640 培养基购于美国 Gibco 公司。顺铂购自美国 Sigma 公司,MTT 和 ELISA 检测试剂盒购自上海东仁化学科技有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞分组与处理 取生长状态良好对数生长期 SKOV-3 细胞,分为三组:PML-PGC-1 $\alpha$  激活组、顺铂组 and 对照组,每组设置 3 个复孔。将母液浓度为 1 mg/ $\mu$ L 的顺铂用培养基稀释成 3.5  $\mu$ g/mL,培养箱中取出 96 孔板,弃去培养基,顺铂组加入 3.5  $\mu$ g/mL 顺铂,每孔 200  $\mu$ L;PML-PGC-1 $\alpha$  激活组采用等体积的 5  $\mu$ mol/L PML-PGC-1 $\alpha$  激动剂 Wy14643 和顺铂处理;激动剂对照组只采用等体积激动剂处理,阴性对照组采用等体积的 RPMI1640 培养液处理。

1.2.2 指标检测 (1) Western blot 检测 PML、PGC-1 蛋白表达:收集各组处理后的细胞,加入 400  $\mu$ L 的 RIPA 裂解液冰上裂解 10 min,12 000 rpm 离心 5 min,取上清。每孔加入 20  $\mu$ g 蛋白,SDS-PAGE 电泳、转膜、封闭,加一抗(抗 PML 抗体、抗 PGC-1 $\alpha$  抗体、抗  $\beta$ -actin 抗体)、4 °C 孵育过夜。然后加入二抗室温孵育 30min, PBS 清洗 3 次,最后曝光置于 Odyssey 荧光检测仪中,检测目的条带的表达情况。

(2) 网格点计数法计算细胞线粒体体视学参数:用网格点计数方法,测试网大小为 14.5 cm  $\times$  7.5 cm,点与点之间的距离是 0.5 cm,共计 435 个测试点。将测试网叠压至电镜照片上,在光学方法电镜照片

11 143 倍电镜照片,计数细胞线粒体内测试点的数量(Pxi)、细胞质内的测试点数量(Pci)、线粒体内两个测试点之间的两个方向的截距(lo)、细胞线粒体膜与横纵方向测试线的交点总数(Ixi)和每个的边长所代表的实际长度(d),计算细胞线粒体体密度(Vv)、平均体积(V)和表面积密度(Sv)。(3) 荧光强度测定 Ca<sup>2+</sup> 含量、ELISA 法测定琥珀酸脱氢酶活性:收集各组处理后的细胞,分别加入 10  $\mu$ mol/L 的 Fluo-3/AM,根据荧光强度和数量分析线粒体膜电位变化的改变情况,测定细胞线粒体 Ca<sup>2+</sup> 含量;收集各组处理后的细胞,在细胞培养板中加入 400  $\mu$ L 的 RIPA 裂解液,振荡摇匀后冰上孵育 30 min,孵育期间每 10 min 振荡 30 s,12 000 rpm 4 °C 离心 10 min,取上清。根据试剂盒说明书步骤进行琥珀酸脱氢酶活性(SDH)测定。(4) MTT 法检测细胞增殖作用的抑制:将处理后的 SKOV-3 细胞以 5  $\times$  10<sup>5</sup> 个/mL 的密度接种到 96 孔板,于培养 24 h 与 48 h 分别每孔加入 10  $\mu$ L 的 MTT 溶液,放入培养箱避光孵育 2 h,弃上清,每孔加入 100  $\mu$ L 二甲基亚砷,置摇床上低速振荡 10 min,酶标仪检测各孔在 570 nm 处的吸光度,计算细胞增殖抑制率。(5) 双染法检测细胞凋亡指数:细胞处理后经过离心,用 4 °C 预冷的无菌 PBS 漂洗细胞两遍,用 250  $\mu$ L 无菌 PBS 结合缓冲液重新悬浮细胞,调整细胞浓度 5  $\times$  10<sup>5</sup> 个/mL,取 200  $\mu$ L 的细胞悬液加入 10  $\mu$ L 的 Annexin 联膜蛋白 V-异硫氰酸荧光素,然后加入 10  $\mu$ L 浓度 20  $\mu$ g/mL 的碘化丙锭,室温避光孵育 10 min,加入 500  $\mu$ L PBS 后上流式细胞仪检测细胞凋亡率。(6) 流式细胞仪检测细胞周期:细胞处理后经过离心,重悬细胞,1 500 rpm 离心 5 min,弃净上清,加入 1 mL 冰预冷的 70% 乙醇重悬细胞,4 °C 固定过夜;PBS 重悬细胞,1 500 rpm 离心 5 min 洗去乙醇;每管加入 500  $\mu$ L 碘化丙啶染色液,室温避光孵育 15 min,上流式细胞仪检测细胞周期。上述实验重复 3 次,取平均值。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.00 软件包进行数据的统计分析,计量数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间对比采用 *t* 检验,多组间对比采用方差分析,数据不符合正态性分布或方差齐性检验时,采用非参数秩和检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 三组 PML、PGC-1 $\alpha$ 蛋白表达比较

处理后 48 h,与对照组相比,激动剂 + 顺铂组、顺铂对照组、激动剂对照组的 PML、PGC-1 $\alpha$  蛋白相

对表达量显著增加 ( $P < 0.05$ ), 与激动剂对照组和顺铂对照组相比, 激动剂 + 顺铂组的 PML、PGC-1 $\alpha$  蛋白相对表达量也均显著增加 ( $P < 0.05$ ), 而该两组相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 三组 PML、PGC-1 $\alpha$  蛋白相对表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	PML	PGC-1 $\alpha$
激动剂 + 顺铂组 ( $n=3$ )	13.65 $\pm$ 0.38 * $\#$ $\Delta$	3.59 $\pm$ 0.09 * $\#$ $\Delta$
顺铂对照组 ( $n=3$ )	8.25 $\pm$ 0.61 *	2.34 $\pm$ 0.41 *
激动剂对照组 ( $n=3$ )	7.91 $\pm$ 0.67 *	2.53 $\pm$ 0.50 *
阴性对照组 ( $n=3$ )	1.82 $\pm$ 0.57	0.51 $\pm$ 0.02

\*  $P < 0.05$ , 与对照组相比; #  $P < 0.05$ , 与激动剂组相比;  $\Delta P < 0.05$ , 与顺铂组相比。

## 2.2 三组细胞线粒体体视学参数比较

处理后 48 h, 与对照组相比, 激动剂 + 顺铂组、顺铂对照组、激动剂对照组的细胞线粒体体视学参数  $V_v$ 、 $V$  以及  $S_v$  值显著增加 ( $P < 0.05$ ), 与激动剂对照组和顺铂对照组相比, 激动剂 + 顺铂组的  $V_v$ 、 $V$  以及  $S_v$  值也均显著增加 ( $P < 0.05$ ), 而该两组相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 三组细胞线粒体体视学参数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$V_v$	$V(\mu m^3)$	$S_v(\mu m^{-1})$
激动剂 + 顺铂组 ( $n=3$ )	0.192 $\pm$ 0.030 * $\#$ $\Delta$	1.605 $\pm$ 0.435 * $\#$ $\Delta$	0.711 $\pm$ 0.036 * $\#$ $\Delta$
顺铂对照组 ( $n=3$ )	0.086 $\pm$ 0.014 *	0.641 $\pm$ 0.031 *	0.418 $\pm$ 0.068 *
激动剂对照组 ( $n=3$ )	0.087 $\pm$ 0.013 *	0.643 $\pm$ 0.030 *	0.423 $\pm$ 0.069 *
阴性对照组 ( $n=3$ )	0.097 $\pm$ 0.026	0.712 $\pm$ 0.037	0.520 $\pm$ 0.106

\*  $P < 0.05$ , 与对照组相比; #  $P < 0.05$ , 与激动剂组相比; 与顺铂组相比,  $\Delta P < 0.05$ 。

## 2.3 三组细胞线粒体功能比较

处理后 48 h, 与对照组相比, 激动剂 + 顺铂组、顺铂对照组、激动剂对照组的线粒体中  $Ca^{2+}$  含量显著增加, SDH 活性显著降低 ( $P < 0.05$ ), 与激动剂对照组和顺铂对照组相比, 激动剂 + 顺铂组的  $Ca^{2+}$  含量均显著增加, 细胞线粒体中 SDH 活性均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 而该两组相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 3 三组细胞线粒体功能比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$Ca^{2+}$	SDH ( $U \cdot mgport^{-1}$ )
激动剂 + 顺铂组 ( $n=3$ )	20.21 $\pm$ 2.26 * $\#$ $\Delta$	2.03 $\pm$ 0.49 * $\#$ $\Delta$
顺铂对照组 ( $n=3$ )	8.16 $\pm$ 1.29 *	5.16 $\pm$ 0.45 *
激动剂对照组 ( $n=3$ )	7.82 $\pm$ 1.33 *	5.97 $\pm$ 0.79 *
阴性对照组 ( $n=3$ )	3.37 $\pm$ 1.12	13.09 $\pm$ 0.19

\*  $P < 0.05$ , 与对照组相比; #  $P < 0.05$ , 与激动剂组相比;  $\Delta P < 0.05$ , 与顺铂组相比。

## 2.4 三组细胞增殖抑制率比较

处理后 24 h、48 h 后, 与对照组相比, 激动剂 +

顺铂组、顺铂对照组、激动剂对照组的细胞增殖抑制率均显著增加 ( $P < 0.05$ ), 与激动剂对照组和顺铂对照组相比, 激动剂 + 顺铂组的细胞增殖抑制率也均显著增加 ( $P < 0.05$ ), 而该两组相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 4。

表 4 三组细胞增殖抑制率比较 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	24 h	48 h
激动剂 + 顺铂组 ( $n=3$ )	78.33 $\pm$ 10.48 * $\#$ $\Delta$	81.02 $\pm$ 6.53 * $\#$ $\Delta$
顺铂对照组 ( $n=3$ )	43.25 $\pm$ 5.85 *	51.26 $\pm$ 3.20 *
激动剂对照组 ( $n=3$ )	45.07 $\pm$ 6.13 *	51.49 $\pm$ 3.55 *
阴性对照组 ( $n=3$ )	35.55 $\pm$ 2.58	36.24 $\pm$ 1.33

\*  $P < 0.05$ , 与对照组相比; #  $P < 0.05$ , 与激动剂组相比;  $\Delta P < 0.05$ , 与顺铂组相比。

## 2.5 三组细胞凋亡指数比较

处理后 24 h 与 48 h 后, 与对照组相比, 激动剂 + 顺铂组、顺铂对照组、激动剂对照组的细胞凋亡率均显著增加 ( $P < 0.05$ ), 与激动剂对照组和顺铂对照组相比, 激动剂 + 顺铂组的细胞凋亡率也均显著增加 ( $P < 0.05$ ), 而该两组相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 5。

表 5 三组细胞凋亡率比较 [ $(\bar{x} \pm s), \%$ ]

组别	24 h	48 h
激动剂 + 顺铂组 ( $n=3$ )	45.38 $\pm$ 7.28 * $\#$ $\Delta$	58.02 $\pm$ 5.11 * $\#$ $\Delta$
顺铂对照组 ( $n=3$ )	10.02 $\pm$ 2.10 *	12.01 $\pm$ 2.86 *
激动剂对照组 ( $n=3$ )	12.29 $\pm$ 3.04 *	15.17 $\pm$ 3.46 *
阴性对照组 ( $n=3$ )	4.76 $\pm$ 0.21	5.10 $\pm$ 0.33

\*  $P < 0.05$ , 与对照组相比; #  $P < 0.05$ , 与激动剂组相比;  $\Delta P < 0.05$ , 与顺铂组相比。

## 2.6 三组细胞周期比较

处理后 48 h 后, 与对照组相比, 激动剂 + 顺铂组、顺铂对照组、激动剂对照组的 G0/G1 期细胞百分比显著增加, S 期和 G2/M 期细胞百分比均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 与激动剂对照组和顺铂对照组相比, 激动剂 + 顺铂组的细胞周期 G0/G1 期细胞百分比显著增加, S 期和 G2/M 期细胞百分比均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 而该两组相比, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 6。

表 6 三组细胞周期比较 [ $(\bar{x} \pm s), \%$ ]

组别	G0/G1 期细胞比例	S	G2/M
激动剂 + 顺铂组 ( $n=3$ )	58.15 $\pm$ 6.61 * $\#$ $\Delta$	12.05 $\pm$ 3.87 * $\#$ $\Delta$	23.52 $\pm$ 5.99 * $\#$ $\Delta$
顺铂对照组 ( $n=3$ )	50.31 $\pm$ 5.66 *	20.78 $\pm$ 3.69 *	30.92 $\pm$ 7.52 *
激动剂对照组 ( $n=3$ )	48.66 $\pm$ 6.51 *	20.13 $\pm$ 3.07 *	29.66 $\pm$ 8.12 *
对照组 ( $n=3$ )	36.02 $\pm$ 5.62	25.75 $\pm$ 3.11	35.44 $\pm$ 9.55

\*  $P < 0.05$ , 与对照组相比; #  $P < 0.05$ , 与激动剂组相比;  $\Delta P < 0.05$ , 与顺铂组相比。

### 3 讨论

卵巢癌是妇科最常见的恶性肿瘤之一,其死亡率居妇科恶性肿瘤之首,当前研究显示卵巢癌的发生、发展是多途径和多因素决定的过程,对于卵巢癌的发生机制进行深入的研究对其临床诊治和预防都具有重要的意义<sup>[7]</sup>。PGC-1 $\alpha$  对线粒体和细胞核基因的共同调节作用,在线粒体的氧化应激过程中发挥了重要的作用<sup>[8-9]</sup>。当前有研究<sup>[10]</sup>显示,激活 PML-PGC-1 $\alpha$  轴,可导致肿瘤细胞增殖抑制率的增加,与肿瘤的发生发展有关,同时可调控线粒体分裂过程。线粒体是真核细胞生物最重要的细胞器,为机体正常生理活动提供必需的能量供应,同时与细胞的增殖、分化、凋亡有着密切的关系,当线粒体的功能异常会直接影响到整个细胞周期的进程<sup>[11]</sup>,线粒体发生分裂时,预示早期细胞凋亡发生的细胞器形态改变之一。本研究探讨了 PML-PGC-1 $\alpha$  轴介导的线粒体代谢参与顺铂诱导的卵巢癌细胞增殖、凋亡的调节,希望能够明确卵巢癌细胞化疗相关的机制。

本研究结果显示,处理后 48 h,激动剂 + 顺铂组、顺铂对照组、激动剂对照组的 PML、PGC-1 $\alpha$  蛋白相对表达量、线粒体中  $\text{Ca}^{2+}$  含量显著增加,线粒体中 SDH 活性显著降低( $P < 0.05$ ),与激动剂对照组和顺铂对照组相比,激动剂 + 顺铂组的 PML、PGC-1 $\alpha$  蛋白相对表达量、线粒体中  $\text{Ca}^{2+}$  含量显著增加,线粒体中 SDH 活性显著降低( $P < 0.05$ )。表明顺铂和 PML-PGC-1 $\alpha$  激活剂的应用不仅能够促进 PML、PGC-1 $\alpha$  蛋白、 $\text{Ca}^{2+}$  含量的表达,而且诱导线粒体发生分裂和融合,降低细胞线粒体中 SDH 活性。 $\text{Ca}^{2+}$  和 SDH 与线粒体功能密切相关,这是因为,一般情况下肿瘤细胞的增殖分化与 ATP 和糖关系密切,糖类营养物质需要在线粒体内最终氧化释能,可通过氧化磷酸化,合成 ATP,为细胞的活动提供必需的能量供应,直接影响细胞的正常功能<sup>[12]</sup>。当细胞内的  $\text{Ca}^{2+}$  含量增加时,线粒体功能则会受到限制<sup>[13]</sup>,当线粒体功能受到抑制时,细胞的能量和代谢供能同时也会受到影响,SDH 的活性随之下降,因此,本研究推测,PML-PGC-1 $\alpha$  激活剂和顺铂对线粒体结构能功能的损害,可能是通过上调细胞线粒体中  $\text{Ca}^{2+}$  含量,抑制 SDH 活性以及促进细胞线粒体发生融合相关。

细胞增殖、凋亡和周期进程是相互调节的复杂过程,其中需要精密调控细胞周期的时相分布。细胞周期指细胞从一次分裂结束至下一次分裂完成所经历的时期,分为间期和分裂期(M 期),前者又分

为 G1 期(DNA 合成前期)、G2 期(DNA 合成后期)、S 期(DNA 合成期),在一系列周期蛋白的调控下,细胞周期得以正常有序的进行<sup>[14]</sup>。当细胞周期出现异常情况时,如 DNA 损伤、DNA 复制受阻时,细胞周期检验点将被激活,及时中断细胞周期运行并进行修复;但是如果修复失败,细胞将启动凋亡程序<sup>[15]</sup>。本研究显示,处理后 24 h 与 48 h,化疗 2 组与化疗 1 组的细胞增殖指数显著低于对照组( $P < 0.05$ ),细胞凋亡指数显著高于对照组( $P < 0.05$ );处理后 48 h,激动剂 + 顺铂组、顺铂对照组、激动剂对照组的 G0/G1 期细胞百分比显著增加,S 期和 G2/M 期细胞百分比均显著降低( $P < 0.05$ ),与激动剂对照组和顺铂对照组相比,激动剂 + 顺铂组的细胞周期 G0/G1 期细胞百分比显著增加,S 期和 G2/M 期细胞百分比均显著降低( $P < 0.05$ ),而该两组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),表明顺铂和 PML-PGC-1 $\alpha$  激活剂的应用均能提高卵巢癌细胞的凋亡率,增加 G0/G1 期细胞占比,抑制卵巢癌细胞生长,且二者共同作用抑制效果更为显著。这是因为 PGC-1 $\alpha$  和顺铂能刺激机体产生一种抑制外在因子缓解其对细胞造成的所带来的潜在性保护作用,最终促进细胞的死亡<sup>[16]</sup>。

综上,顺铂的应用能提高卵巢癌细胞的凋亡率,抑制其增殖,可能在于 PML-PGC-1 $\alpha$  轴介导的线粒体代谢参与了顺铂诱导的卵巢癌细胞的调节。本研究也有一定的不足,未对 PML-PGC-1 $\alpha$  轴下游信号蛋白表达进行检测,对于 PML-PGC-1 $\alpha$  轴的具体作用机制还不明确,将在后续研究中进行分析。

#### 参考文献

- [1] 陶鑫丽,陈姚.晚期卵巢癌新辅助化疗的疗效预测[J].现代妇产科进展,2019,28(4):304-307.
- [2] Ren F,Shen J,Shi H,et al. Novel mechanisms and approaches to overcome multidrug resistance in the treatment of ovarian cancer [J]. Biochim Biophys Acta,2016,1866(2):266-275.
- [3] Wilson AJ,Saskowski J,Barham W,et al. Microenvironmental effects limit efficacy of thymoquinone treatment in a mouse model of ovarian cancer[J]. Mol Cancer,2015,14(1):1-14.
- [4] Cascalescampos P,LópezLópez V,Gil J,et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with paclitaxel or cisplatin in patients with stage III-C/IV ovarian cancer. Is there any difference? [J]. Surgical Oncology,2016,25(3):164-170.
- [5] Kim B,Jung JW,Jung J,et al. PGC1 $\alpha$  induced by reactive oxygen species contributes to chemoresistance of ovarian cancer cells[J]. Oncotarget,2017,8(36):60299-60311.
- [6] 李久现,张勤华.卵巢癌化疗耐药机制及逆转耐药的研究概况[J].医学综述,2011,17(5):641-644.
- [7] 陈颖,毕芳芳,杨清. PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制剂在卵巢癌治疗中的研究进展[J].现代药物与临床,2018,33(5):1273-1277.

[8] Tan Z, Luo X, Xiao L, et al. The Role of PGC1 in Cancer Metabolism and its Therapeutic Implications[J]. Mol Cancer Ther, 2016, 15(5): 774 - 82.

[9] 黄婉玲. PGC-1 $\alpha$  过表达对多巴胺能神经元线粒体信号转导的影响[D]. 福州: 福建医科大学, 2014.

[10] Park JI, Shin SW, Park ES, et al. Abstract 274: PGC-1 $\alpha$  over-expression is related to increased cell proliferation and tumorigenesis [J]. Neuro, 2011, 71(8S): 274 - 274.

[11] Wang CF, Song CY, Wang X, et al. Protective effects of melatonin on mitochondrial biogenesis and mitochondrial structure and function in the HEK293-APPswe cell model of Alzheimer's disease [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(8): 3542 - 3550.

[12] 陈茜茜. 线粒体稳态维持与细胞凋亡及肿瘤发展关系的机制研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2016.

[13] 邵颖, 刘丹, 刘诺亚, 等. 同型半胱氨酸致人脐静脉内皮细胞线粒体损伤中钙信号研究[C]. 中国毒理学会第七次全国会员代表大会暨中国毒理学会第六次中青年学者科技论坛, 2018.

[15] 范婷婷, 唐良菘. 沉默 Nek2 基因对卵巢癌 SKOV3 细胞周期的影响[J]. 重庆医学, 2015, 44(11): 1463 - 1465.

[16] Choi H, Kim HJ, Park JS, et al. PGC-1 $\alpha$  attenuates hydrogen peroxide-induced apoptotic cell death by upregulating Nrf-2 via GSK3 $\beta$  inactivation mediated by activated p38 in HK-2 Cells[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 4319 - 4331.

(收稿日期: 2019-10-30)

学术编辑: 谌伦华)

### (上接第 562 页)

本研究不足之处在于, 研究结果可为眼科临床用药提供一定的基础依据, 但其在临床上的使用效果、不良反应和作用机理并未证实, 而且, 本研究未进行术后长期 (>6 月) 两组泪液分泌量检测, mNGF 对于 LASIK 术远期泪液分泌量的研究, 将会在下一步实验中继续探讨。

综上所述, mNGF 对兔眼 LASIK 术后角膜神经上皮细胞结构和角膜神经修复有促进作用, 可能与降低炎症反应, 促进 NGF 分泌有关。鼠神经生长因子局部滴眼可以改善 LASIK 术后干眼的症状, 促进角膜知觉恢复。

### 参考文献

[1] 李佳佳, 郭永越, 苏乐琪, 等. LASIK 术后远期干眼与高阶像差改变及对视觉质量的影响[J]. 国际眼科杂志, 2019, 19(6): 1007 - 1011.

[2] José R Soler Tomás, Graciana Fuentes-Páez, Burillo S. Symmetrical Versus Asymmetrical PresbyLASIK: Results After 18 Months and Patient Satisfaction[J]. Cornea, 2015, 34(6): 651.

[3] 贾慧珍. LASIK 术前视网膜病变干预期激光治疗的疗效观察[J]. 中国激光医学杂志, 2015, 24(6): 338 - 340.

[4] Mian SI, Li AY, Dutta S, et al. Dry eyes and corneal sensation after laser in situ keratomileusis with femtosecond laser flap creation Effect of hinge position, hinge angle, and flap thickness [J]. Journal of Cataract & Refractive Surgery, 2009, 35(12): 2092 - 2098.

[5] Perez-Straziota C, Randleman JB. Femtosecond-assisted LASIK: Complications and Management [J]. International Ophthalmology Clinics, 2016, 56(2): 59.

[6] Hallak J, Azar DT. Other Complications; Management of Recalcitrant Late-Onset DLK After Hyperopic LASIK [J]. Difficult and

Complicated Cases in Refractive Surgery, 2015, 287 - 292.

[7] Zhao KH, Wen-Xiu LU, Wang WC, et al. Long-term effect of LASIK for myopia[J]. Ophthalmology in China, 2015, 24(2): 108 - 111.

[8] Chenying Yu, Ying Li, Zhonghai Wang, et al. Comparison of corneal nerve regeneration and dry eye condition after conventional LASIK and femtosecond-assisted LASIK [J]. [Zhonghua yan ke za zhi] Chinese journal of ophthalmology, 2015, 51(3): 188 - 192.

[9] Yoko Sone, Shingo Takatori, Eiko Ochi, et al. Nerve Growth Factor Facilitates the Innervation of Perivascular Nerves in Tumor-Derived Neovasculature in the Mouse Cornea [J]. Pharmacology, 2016, 99(1 - 2): 57 - 66.

[10] 路芳, 朱艳, 郭进辉. 鼠神经生长因子联合丙种球蛋白治疗小儿脱髓鞘型吉兰-巴雷综合征临床研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 271(15): 1639 - 1641.

[11] 舒泰神(北京)药业有限公司. 鼠神经生长因子在眼科的应用 [J]. 眼科, 2007, 16(6): 4 - 5.

[12] 熊彦. LASIK 术后应用 NGF 对兔角膜神经修复与泪液动力学变化的研究[D]. 温州: 温州医科大学, 2016.

[13] Ke M, Naihong Y, Yongzhi H, et al. Effects of nerve growth factor on nerve regeneration after corneal nerve damage [J]. International Journal of Clinical & Experimental Medicine, 2014, 7(11): 4584.

[14] Rosenthal P, Borsook D. The corneal pain system. Part I: the missing piece of the dry eye puzzle [J]. The ocular surface, 2012, 10(1): 2 - 14.

[15] 苏利梅, 潘杰. 眼周针刺结合鼠神经生长因子治疗脑梗死后眼睑下垂疗效观察[J]. 按摩与康复医学, 2018, 9(14): 45 - 47.

[16] 赵秀秀, 赵少贞. 飞秒激光与机械构层刀制瓣 LASIK 术后泪液 TNF- $\alpha$  水平与干眼的关系[J]. 山东医药, 2015, 55(29): 65 - 67.

[17] 余晨颖, 李莹, 王忠海, 等. 传统和飞秒激光辅助的 LASIK 术后角膜神经再生及干眼情况比较[J]. 中华眼科杂志, 2015, 51(3): 188 - 192.

(收稿日期: 2020-03-01)

学术编辑: 邹春春)