

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.08.007

基于 JAK2/STAT3 信号通路探讨白藜芦醇 对骨肉瘤 MG-63 细胞凋亡及迁移的影响 *

李家驹¹ 刘振辉² 孙天宇¹ 姬昌彬¹ 郭润涛¹ 熊明月^{1Δ}

(1 河南科技大学第一附属医院新区医院骨科 河南 洛阳 471000; 2 河南省人民医院骨科 河南 郑州 450003)

摘要 目的:研究白藜芦醇(RES)通过蛋白酪氨酸激酶 2/ 信号转导子与激活子 3(JAK2/STAT3)信号通路对人骨肉瘤体外细胞株 MG-63 细胞凋亡、侵袭和迁移的影响。**方法:**体外培养 MG-63 细胞,以不同浓度的 RES 作用于 MG-63 细胞。Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞术检测不同时间和不同浓度的 RES 对 MG-63 细胞凋亡的影响。划痕实验和 Transwell 实验检测不同时间和不同浓度的 RES 对 MG-63 细胞侵袭和迁移能力的影响。免疫印迹实验检测不同时间和不同浓度的 RES 对 MG-63 细胞磷酸化蛋白酪氨酸激酶 2(p-JAK2)、磷酸化信号转导子与激活子 3(p-STAT3)、凋亡相关蛋白 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 家族促凋亡蛋白(Bax)及基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 表达的影响。**结果:**RES 浓度越高,时间越久, MG-63 细胞凋亡率越高($P<0.05$)。RES 浓度越高, MG-63 细胞迁移和侵袭能力越弱 ($P<0.05$)。RES 处理 MG-63 细胞后其 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 以及 MMP-2、MMP-9 的表达明显降低,而 Bax 蛋白表达明显升高,且 p-JAK2、p-STAT3、Bax、Bcl-2 以及 MMP-2、MMP-9 的表达水平变化具有 RES 浓度依赖性($P<0.05$)。**结论:**RES 可能通过调控 JAK2/STAT3 信号通路促使人骨肉瘤 MG-63 细胞凋亡,并抑制 MG-63 细胞侵袭和迁移。

关键词:白藜芦醇;MG-63 细胞;JAK2/STAT3 信号通路;凋亡;侵袭;迁移

中图分类号:R-33;R738 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)08-1434-05

Effects of Resveratrol on Apoptosis and Migration of Osteosarcoma MG-63 Cells Based on JAK2 / STAT3 Signaling Pathway*

LI Jia-ju¹, LIU Zhen-hui², SUN Tian-yu¹, JI Chang-bin¹, GUO Run-tao¹, XIONG Ming-yue^{1Δ}

(1 Department of Orthopaedics, New Area Hospital of the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan, 471000, China; 2 Department of Orthopaedics, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan, 450003, China)

ABSTRACT Objective: To study the effect of resveratrol (RES) on the apoptosis, invasion and migration of human osteosarcoma cell line MG-63 through JAK2/STAT3 signaling pathway. **Methods:** MG-63 cells were cultured in vitro, and MG-63 cells were treated with different concentrations of RES. Annexin V-FITC/PI double staining was used to detect the effects of RES at different times and different concentrations on the apoptosis of MG-63 cells. Scratch test and Transwell invasion test were used to detect the effects of different time and different concentration of RES on the invasion and migration ability of MG-63 cells. Western blotting was used to detect the expression of phosphorylated protein tyrosine kinase 2 (p-JAK2), phosphorylated protein tyrosine kinase 3 (p-STAT3), apoptosis-associated protein B lymphocytoma-2(Bcl-2), Bcl-2 family of pro-apoptotic proteins(Bax), matrix metalloproteinase(MMP)-2 and MMP-9 in MG-63 cells after treated with RES at different times points and concentrations. **Results:** The higher the RES concentration, and the longer the time, the higher the apoptosis rate of MG-63 cells ($P<0.05$). The higher the RES concentration, the weaker the migration and invasion ability of MG-63 cells ($P<0.05$). After RES treatment of MG-63 cells, the expression of p-JAK2, p-STAT3, Bcl-2, MMP-2 and MMP-9 were significantly decreased, while the expression of Bax was significantly increased, and the expression levels of pp-JAK2, p-STAT3, Bax, Bcl-2, MMP-2 and MMP-9 were RES concentration-dependent ($P<0.05$). **Conclusion:** RES may promote the apoptosis of human osteosarcoma MG-63 cells by regulating the JAK2/STAT3 signaling pathway, and inhibit the invasion and migration ability of osteosarcoma cells.

Key words: Resveratrol; MG-63 cells; JAK2/STAT3 signaling pathway; Apoptosis; Invasion; Migration

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R738 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)08-1434-05

前言

骨肉瘤是儿童常见的骨恶性肿瘤,起源于原始成骨细胞的间充质,恶性程度高,早期即可发生转移,预后较差^[1]。近年来随

* 基金项目:河南省科技厅基础与前沿技术研究计划项目(132300410469)

作者简介:李家驹(1995-),男,硕士研究生,研究方向:骨科临床与基础,E-mail: brightsunshine0523@163.com

Δ 通讯作者:熊明月(1967-),男,博士,主任医师,研究方向:骨关节、骨肿瘤,E-mail: mingyuexiong2018@sina.com

(收稿日期:2021-09-18 接受日期:2021-10-13)

着手术和放、化疗技术的发展,患者的远期预后得到一定的提高^[2]。但仍有约 30%的非转移患者在化疗等治疗过程中出现药物抵抗,并发生肿瘤复发转移,最终导致死亡^[3]。寻找化疗替代物一直是当下肿瘤治疗的研究热点。白藜芦醇(resveratrol, RES)是非黄酮类天然多酚化合物。研究表明,RES 对肺癌^[4]、结直肠癌^[5]及肝癌^[6]等恶性肿瘤均具有良好的肿瘤细胞杀伤作用,RES 能够通过抑制磷脂酰肌醇三激酶/苏氨酸激酶信号通路,抑制肿瘤细胞的增殖、促进凋亡^[7]。近年来研究报道,白藜芦醇对荷瘤小鼠的骨肉瘤肿瘤细胞的增殖具有一定的抑制作用,其可能是通过促进肿瘤微环境中肿瘤杀伤免疫细胞(如自然杀伤细胞、CD8⁺T 细胞等)的浸润,进而发挥肿瘤抑制作用^[8],但具体作用机制尚不清楚。本研究以 RES 对骨肉瘤 MG-63 细胞进行处理,观察不同浓度和不同时间点 RES 促进骨肉瘤细胞凋亡、抑制迁移和侵袭的效果,以期为临床治疗骨肉瘤提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人骨肉瘤细胞株 MG-63 购于美国 ATCC 公司。RES 购于美国 Sigma 公司。DMEM 培养基、胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司,胎牛血清购自浙江天杭生物科技股份有限公司。BCA 蛋白定量试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。兔抗人 p-JAK2 抗体、兔抗人 p-STAT3 抗体、兔抗人 Bax 抗体、兔抗人 Bcl-2 抗体、兔抗人 GAPDH 抗体、山羊抗兔二抗均购自美国 Abcam 公司。预染蛋白 Marker、ECL 发光试剂购自北京酷来博科技公司。RIPA 细胞裂解液、PMSF 及 DMSO 购自上海碧云天生物技术有限公司。Transwell 侵袭小室购自美国康宁公司。Matrigel 胶购自美国 BD 公司。Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自北京博尔迈生物公司。FACS Caliber 流式细胞仪购自德国 BD 公司。ZOOM-300 三目连续变倍立体视显微镜购自上海永科光学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞传代培养 将 MG-63 细胞接种于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,置于 37℃、5% CO₂ 的细胞培养箱培养。待细胞生长融合度达 80%,处于对数生长期且生长状态良好的细胞传代,以 1:4 比例进行传代,用于后续实验。

1.2.2 Annexin V-PI 法检测 MG-63 细胞凋亡 6 孔板中待 MG-63 细胞生长融合度达 80%,处于对数生长期且生长状态良好的细胞,根据 RES 加入浓度不同分为 0 μmol/L 组(DMEM)、10 μmol/L 组(DMEM+10 μmol/L 的 RES)、25 μmol/L 组(DMEM+25 μmol/L 的 RES)、50 μmol/L 组(DMEM+50 μmol/L 的 RES)、100 μmol/L 组(DMEM+100 μmol/L 的 RES)、150 μmol/L 组(DMEM+150 μmol/L 的 RES)。细胞培养箱孵育 24、48 及 72 h 后,胰酶消化细胞,磷酸盐缓冲液洗涤,加入结合缓冲液,细胞密度 1×10⁵/mL,冰浴,取 100 μL 加入 5 μL FITC Annexin 和 10 μL 的 PI 置于细胞悬液中,混匀后 4℃下避光染色 10 min,加入 490 μL 结合缓冲液,避光静置 1 h。流式细胞仪检测不同浓度细胞的凋亡,分析加药后细胞凋亡的百分比。Annexin-V 阳性的细胞认为是凋亡细胞,计算细胞凋亡率。

1.2.3 划痕实验检测 RES 对 MG-63 细胞迁移的影响 6 孔板

中待 MG-63 细胞生长融合度达 80%,处于对数生长期且生长状态良好的细胞,根据 RES 加入浓度不同分为 0 μmol/L 组(DMEM)、50 μmol/L 组(DMEM+50 μmol/L 的 RES)、100 μmol/L 组(DMEM+100 μmol/L 的 RES)。加无血清 DMEM 培养液放置细胞培养箱中培养 24 h,用 200 μL 枪头比着直尺垂直划线,用磷酸盐缓冲液洗涤细胞三次,细胞培养箱中培养 24 h 后,在镜下拍摄结果照片,每个孔取 5 个视野,测量划痕宽度,结果取平均值。

1.2.4 Transwell 实验检测 RES 对 MG-63 细胞侵袭的影响 将基质胶 Matrigel 用 DMEM 培养基以 1:8 的比例稀释,包被 Transwell 小室的上室面,37℃ 条件下静置 30 min。Transwell 下室中加 750 μL 含有 20%胎牛血清的 DMEM 培养基,上室中加 200 μL 密度 1×10⁵/mL 的细胞悬液。细胞培养箱中培养 48 h 后,甲醇固定,加 0.3%结晶紫染色 15 min,磷酸盐缓冲液洗涤 3 次,再用棉球擦去小室上表面细胞,显微镜下观察。随机取 5 个视野,计数细胞,结果取平均值。

1.2.5 免疫印迹实验检测凋亡、侵袭和迁移相关蛋白的表达 6 孔板中待 MG-63 细胞生长融合度达 80%,处于对数生长期且生长状态良好的细胞,根据 RES 加入浓度不同分为 0 μmol/L 组(DMEM)、50 μmol/L 组(DMEM+50 μmol/L 的 RES)、100 μmol/L 组(DMEM+100 μmol/L 的 RES)。培养 48 h 后,RIPA 裂解 MG-63 细胞提取蛋白,BCA 蛋白定量。加上样缓冲液,105℃金属浴 15 分钟后,进行 SDS-PAGE 胶电泳:浓缩胶恒压 80V,分离胶恒压 120 V,恒流 300 mA 转印 90 min。将 PVDF 膜放入 5%BSA 中封闭 2 h,一抗 4℃孵育过夜[磷酸化蛋白酪氨酸激酶 2(p-JAK2)、磷酸化信号转导子与激活子 3(p-STAT3)、凋亡相关蛋白 B 淋巴细胞瘤 -2(Bcl-2)、Bcl-2 家族促凋亡蛋白(Bax)以及基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 一抗稀释比 1:1000,均购自 abcam 公司,货号 ab219728、ab267373、ab32503、ab32370、ab214516、ab76003],二抗室温孵育 1 小时。用增强化学发光法(ECL)显影,凝胶成像软件扫描条带灰度。以 GAPDH 作为内参,计算各蛋白条带的相对灰度值,表示所检测蛋白质的相对含量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据。计量数据以均数±标准差表示,比较采用单因素方差分析及 SNK-Q 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RES 促进 MG-63 细胞凋亡

流式细胞术检测不同浓度 RES 处理 MG-63 细胞的凋亡率,结果显示:RES 浓度越高,MG-63 细胞凋亡率越高($P<0.05$);同时检测 RES 处理不同时间点 MG-63 细胞的凋亡率,结果加入 RES 时间越久,MG-63 细胞凋亡率越高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。而对照组细胞凋亡率各时间点之间差异无统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 RES 抑制 MG-63 细胞迁移和侵袭能力

划痕实验结果显示:相比于 0 μmol/L 组,50 μmol/L 组和 100 μmol/L 组的 MG-63 细胞迁移能力明显减弱,并且随着 RES 浓度越高,MG-63 细胞迁移能力减弱更为明显($P<0.05$);

Transwell 实验结果显示: 相比于 0 $\mu\text{mol/L}$ 组, 50 $\mu\text{mol/L}$ 组和 100 $\mu\text{mol/L}$ 组的 MG-63 细胞侵袭能力明显减弱, 并且随着 RES 浓度越高, MG-63 细胞侵袭能力减弱更为明显 ($P<0.05$)。见表 2、图 1-2。

表 1 RES 在不同时间和不同浓度对 MG-63 细胞凋亡细胞率的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 1 Effects of RES at different times and different concentrations on apoptosis rate of MG-63 cells($\bar{x} \pm s, \%$)

Drug concentrations	24 h	48 h	72 h
0 $\mu\text{mol/L}$	5.10 $\pm$ 1.10	4.93 $\pm$ 1.14 ^f	8.41 $\pm$ 1.17 ^g
10 $\mu\text{mol/L}$	7.20 $\pm$ 1.22 ^a	15.17 $\pm$ 1.41 ^{af}	20.26 $\pm$ 2.01 ^{ag}
25 $\mu\text{mol/L}$	10.24 $\pm$ 2.52 ^{ab}	35.66 $\pm$ 3.92 ^{abf}	44.63 $\pm$ 4.04 ^{abfg}
50 $\mu\text{mol/L}$	14.36 $\pm$ 3.11 ^{abc}	41.15 $\pm$ 5.42 ^{abcf}	57.85 $\pm$ 5.13 ^{abcfg}
100 $\mu\text{mol/L}$	23.36 $\pm$ 3.03 ^{abcd}	50.27 $\pm$ 4.45 ^{abcdf}	65.27 $\pm$ 5.61 ^{abcdfg}
150 $\mu\text{mol/L}$	27.85 $\pm$ 3.69 ^{abcde}	62.12 $\pm$ 5.85 ^{abcdef}	72.36 $\pm$ 6.23 ^{abcdefg}

Note: Compared with 0 $\mu\text{mol/L}$, ^a $P<0.05$. Compared with 10 $\mu\text{mol/L}$, ^b $P<0.05$. Compared with 25 $\mu\text{mol/L}$, ^c $P<0.05$. Compared with 50 $\mu\text{mol/L}$, ^d $P<0.05$. Compared with 100 $\mu\text{mol/L}$, ^e $P<0.05$. Compared with 24 h, ^f $P<0.05$. Compared with 48 h, ^g $P<0.05$.

表 2 RES 抑制 MG-63 细胞迁移和侵袭能力($\bar{x} \pm s$)

Table 2 RES inhibited migration and invasion of MG-63 cells($\bar{x} \pm s$)

Drug concentrations	12 h		24 h	
	Scratch width(mm)	Number of transmembrane cells	Scratch width(mm)	Number of transmembrane cells
0 $\mu\text{mol/L}$	8.5 $\pm$ 1.15	115.10 $\pm$ 21.44	5.01 $\pm$ 1.06	175.76 $\pm$ 23.15
50 $\mu\text{mol/L}$	12.15 $\pm$ 2.11 ^a	66.22 $\pm$ 17.69 ^a	10.58 $\pm$ 1.25 ^a	86.20 $\pm$ 16.29 ^a
100 $\mu\text{mol/L}$	15.36 $\pm$ 2.14 ^{ab}	33.78 $\pm$ 13.12 ^{ab}	13.27 $\pm$ 2.36 ^{ab}	43.14 $\pm$ 14.24 ^{ab}

Note: Compared with 0 $\mu\text{mol/L}$, ^a $P<0.05$. Compared with 50 $\mu\text{mol/L}$, ^b $P<0.05$.

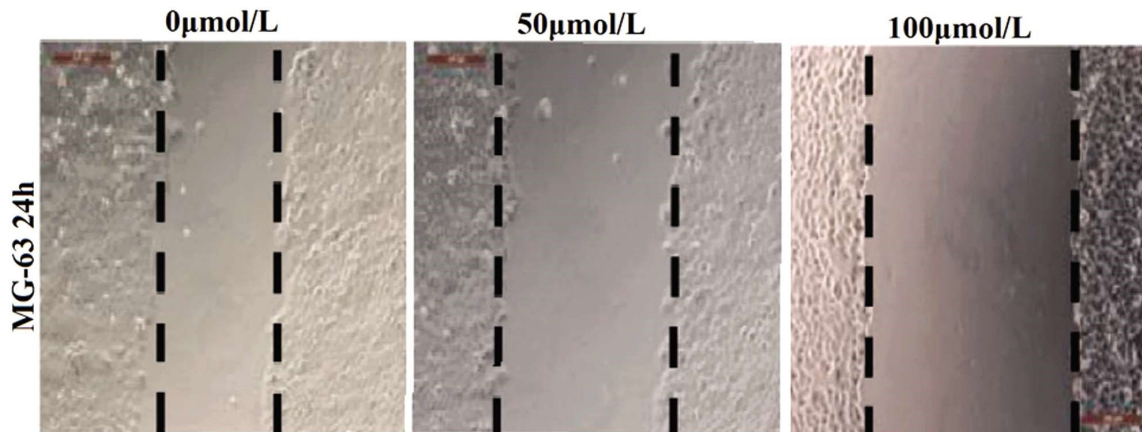


图 1 RES 抑制 MG-63 细胞迁移能力

Fig. 1 RES inhibited the migration of MG-63 cells

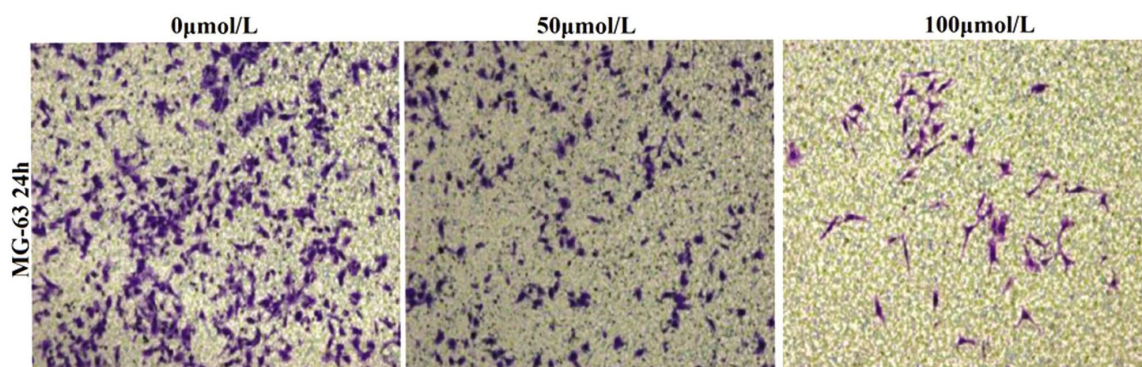


图 2 RES 抑制 MG-63 细胞侵袭能力

Fig.2 RES inhibited the invasion of MG-63 cells

2.3 RES 抑制 MG-63 细胞 JAK2/STAT3 通路的激活

免疫印迹实验检测不同浓度 RES (0、50、100 $\mu\text{mol/L}$) 处理 MG-63 细胞后的结果显示:p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 以及

MMP-2、MMP-9 的表达明显降低,而 Bax 蛋白表达明显升高,且 p-JAK2、p-STAT3、Bax、Bcl-2 以及 MMP-2、MMP-9 的表达水平变化具有 RES 浓度依赖性($P<0.05$)。见表 3、图 3。

表 3 RES 抑制 MG-63 细胞 JAK2/STAT3 通路蛋白表达影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of RES on JAK2 / STAT3 pathway protein expression of MG-63 cells ($\bar{x} \pm s$)

RES concentrations	p-JAK2	p-STAT3	Bax	Bcl-2	MMP-2	MMP-9
0 $\mu\text{mol/L}$	1.23 $\pm$ 0.22	1.20 $\pm$ 0.17	1.01 $\pm$ 0.14	1.15 $\pm$ 0.23	1.21 $\pm$ 0.22	1.04 $\pm$ 0.17
50 $\mu\text{mol/L}$	0.74 $\pm$ 0.17 ^a	0.84 $\pm$ 0.12 ^a	1.46 $\pm$ 0.32 ^a	0.84 $\pm$ 0.12 ^a	0.80 $\pm$ 0.16 ^a	0.76 $\pm$ 0.13 ^a
100 $\mu\text{mol/L}$	0.36 $\pm$ 0.13 ^{ab}	0.43 $\pm$ 0.09 ^{ab}	1.87 $\pm$ 0.45 ^{ab}	0.66 $\pm$ 0.13 ^{ab}	0.36 $\pm$ 0.09 ^{ab}	0.42 $\pm$ 0.10 ^{ab}

Note: Compared with 0 $\mu\text{mol/L}$, ^a $P<0.05$. Compared with 50 $\mu\text{mol/L}$, ^b $P<0.05$.

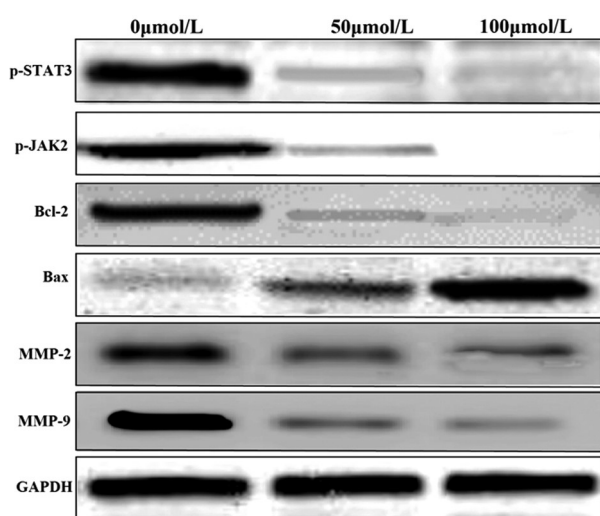


图 3 RES 抑制 MG-63 细胞 JAK2/STAT3 通路蛋白表达影响

Fig. 3 Effect of RES on JAK2 / STAT3 pathway protein expression in MG-63 cells

3 讨论

骨肉瘤是常见的恶性肿瘤,多发于干骺端。目前骨肉瘤的治疗以手术、化疗等综合治疗为主,但仍有约 30% 的患者由于治疗不敏感或治疗抵抗导致肿瘤复发转移,预后较差^[9]。因此,手术、放化疗及生物疗法等联合使用的综合性治疗方案能够弥补单一治疗模式的缺点,可在一定程度上延长患者的生存期。近年来,RES、姜黄素等天然的具有抗氧化、抗肿瘤功效的物质得到广泛关注,可能作为新的骨肉瘤临床治疗药物。RES 是一种具有抗炎、抗氧化及凋亡诱导作用的天然的多酚类物质,介导炎症反应、肿瘤发生和心脏保护等病理生理过程^[10]。有学者证实,RES 通过抑制核因子 $\text{KB-}\kappa\text{B}$ 的激活,抑制氧化应激反应,发挥抗氧化和抗炎的作用^[11]。近年来学者发现,RES 对肝癌^[12]、乳腺癌^[13]及胃癌^[14]等多种人类恶性肿瘤均具有抑癌的作用,其能够抑制肿瘤细胞苏氨酸激酶的磷酸化激活,抑制上皮间质转化的发生,抑制肿瘤的进展。本研究结果得出,RES 能以时间和浓度依赖的方式诱导 MG-63 细胞的凋亡,表明 RES 具有抑制骨肉瘤细胞的作用。RES 在肿瘤中主要发挥抗氧化、细胞周期阻滞及促进肿瘤细胞凋亡的生物学功能^[15]。有学者报道,RES 能够通过促进骨肉瘤细胞 U2OS 中 miR-139-5p 的表达,抑制 notch1 的表达,进而促进肿瘤细胞的凋亡^[16]。此外,

RES 能够通过促进肿瘤细胞表达 TRAIL 及相关配体,TRAIL 结合并活化死亡受体如 caspase-8 等,促进肿瘤细胞凋亡的发生^[17]。本研究中,RES 能够抑制 Bcl-2 表达,而促进 Bax 的表达。分析其机制,可能是 RES 能够通过影响 p53 蛋白的活性,发挥激活 Bax 表达、抑制 Bcl-2 表达的功能^[18]。既往研究证实,抑癌基因 P53 参与调节细胞凋亡的过程,p53 具有转录活化促凋亡蛋白 Bax 表达的能力,并能够下调 BCL-2 蛋白表达,进而激活线粒体凋亡通路,促进肿瘤细胞的凋亡^[19,20]。既往研究表明,JAK2/STAT3 的激活能够显著抑制肿瘤细胞的凋亡^[21]。有学者在中风动物模型实验中发现,RES 能够通过抑制 JAK2/STAT3 的激活,发挥神经保护作用^[22]。因此,RES 可能通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路的激活,抑制骨肉瘤细胞的凋亡。本研究应用免疫印迹实验检测 RES 处理 MG-63 细胞后 JAK2/STAT3 的激活情况,发现 RES 处理后,JAK2 和 STAT3 的磷酸化激活明显减弱,从而证实上述假设。

局部浸润和远处转移是肿瘤的基本特征之一。对于侵袭转移能力较强的肿瘤,疾病发生早期即可存在远处转移,患者临床预后一般较差。肿瘤细胞转移需要水解消化细胞外基质,然后通过血管基底膜进入循环系统,进入远处转移灶生长。因此,寻找有效抑制肿瘤迁移和侵袭的治疗药物,干预肿瘤转移的过程,对于改善患者预后具有重要的意义。本研究利用体外细胞实验分析不同浓度 RES 对骨肉瘤细胞 MG-63 迁移和侵袭能力的影响,结果 RES 能够以浓度依赖的方式抑制 MG-63 细胞的迁移和侵袭。分析其机制,可能与 RES 能够抑制上皮间质转化过程中的基因表达有关。有学者报道,RES 能够抑制上皮间质转化过程中的重要转录因子 ZEB1 的表达,导致上皮性标志 E- 钙黏素表达增加,肿瘤细胞之间的粘附性增加,抑制肿瘤细胞转移^[23]。此外,RES 还能够通过抑制环氧合酶 2 的活性,抑制 MMP 的表达,减少肿瘤细胞对细胞外基质的降解,抑制肿瘤转移^[24,25]。近年来发现,肿瘤细胞的上皮间质转化过程受到 JAK2/STAT3 信号通路的调控,该信号通路的显著激活能够明显促进肿瘤的转移过程^[26,27]。此外,既往研究亦证实骨肉瘤中存在 JAK2/STAT3 过度激活的现象^[28-30]。因此,笔者推测 RES 对骨肉瘤 MG-63 细胞的迁移和侵袭的抑制作用,可能是 RES 通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路的激活发挥作用的。为验证该假设,本研究进一步研究不同浓度 RES 处理骨肉瘤 MG-63 细胞后 JAK2/STAT3 磷酸化激活的情况,结果 JAK2 和 STAT3 的磷酸化程度显著减弱,并且 MMP-2 和 MMP-9 表达显著降低,导

致肿瘤细胞之间的黏附能力显著减弱,导致肿瘤细胞迁移和侵袭能力减弱,从而证实上述假设。

综上所述,RES 可能通过抑制 JAK2/STAT3 的活化,从而抑制骨肉瘤 MG-63 细胞的迁移、侵袭并促进其凋亡,并且具有时间和浓度依赖性。值得注意的是 RES 作用于骨肉瘤 MG-63 细胞的确切机制有待今后进一步深入研究。

参考文献(References)

- [1] Jafari F, Javdansirat S, Sanaie S, et al. Osteosarcoma: A comprehensive review of management and treatment strategies [J]. *Ann Diagn Pathol*, 2020, 4(9): 1516-1524
- [2] 曹莉莉, 朱岩, 樊根涛, 等. 骨肉瘤的治疗进展 [J]. *中国骨与关节杂志*, 2020, 9(10): 771-778
- [3] Yang C, Tian Y, Zhao F, et al. Bone Microenvironment and Osteosarcoma Metastasis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): 223-229
- [4] 黎展华, 周继红, 陈斯宁, 等. 白藜芦醇通过调控 S1P/S1PR3 抑制非小细胞肺癌细胞迁移及侵袭[J]. *现代医学*, 2021, 49(6): 610-615
- [5] 肖忠盛, 龙泓, 丁成明, 等. 白藜芦醇通过调控 mTOR 信号通路抑制结肠癌细胞的增殖和糖酵解作用 [J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(14): 2210-2214
- [6] 郑修齐, 吕小会, 张鑫, 等. 白藜芦醇诱导人肝癌细胞 HepG2 凋亡的作用及机制[J]. *热带医学杂志*, 2021, 21(4): 452-455, 532
- [7] 刘卫国, 张情, 侯俊杰, 等. 白藜芦醇对人甲状腺乳头状癌细胞 I-HH4 细胞恶性生物学特征及 PI3K/Akt 信号通路影响 [J]. *广西医科大学学报*, 2021, 38(9): 1647-1653
- [8] 童晨曦, 杨雪婷, 周恩俊, 等. 白藜芦醇抑制荷骨肉瘤小鼠肿瘤生长的机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(5): 557-563
- [9] 高伟, 钟仕洋, 马云, 等. 不同浓度白牡丹素对骨肉瘤细胞 MG-63 凋亡迁移、基质金属蛋白酶及 Bcl-2、Bax、Ezrin 蛋白表达的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2021, 21(2): 201-204, 247
- [10] Rauf A, Imran M, Butt MS, et al. Resveratrol as an anti-cancer agent: A review[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2018, 58(9): 1428-1447
- [11] Rahman I, Biswas SK, Kirkham PA. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols[J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72(11): 1439-1452
- [12] Rawat D, Shrivastava S, Naik RA, et al. An Overview of Natural Plant Products in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2018, 18(13): 1838-1859
- [13] Sun Y, Zhou QM, Lu YY, et al. Resveratrol Inhibits the Migration and Metastasis of MDA-MB-231 Human Breast Cancer by Reversing TGF- β 1-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition [J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 458-467
- [14] Xu J, Liu D, Niu H, et al. Resveratrol reverses Doxorubicin resistance by inhibiting epithelial-mesenchymal transition (EMT) through modulating PTEN/Akt signaling pathway in gastric cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 19-30
- [15] 高倩, 刘卫, 唐郡. 白藜芦醇抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2016, 30(9): 845-847
- [16] Xiao X, Zhang Y, Pan W, et al. miR-139-mediated NOTCH1 regulation is crucial for the inhibition of osteosarcoma progression caused by resveratrol[J]. *Life Sci*, 2020, 24(2): 1172-1185
- [17] Rasheduzzaman M, Jeong JK, Park SY. Resveratrol sensitizes lung cancer cell to TRAIL by p53 independent and suppression of Akt/NF- κ B signaling[J]. *Life Sci*, 2018, 20(8): 208-220
- [18] Repossi G, Das UN, Eynard AR. Molecular Basis of the Beneficial Actions of Resveratrol[J]. *Arch Med Res*, 2020, 51(2): 105-114
- [19] Ramadan MA, Shawkey AE, Rabeh MA, et al. Expression of P53, BAX, and BCL-2 in human malignant melanoma and squamous cell carcinoma cells after tea tree oil treatment in vitro[J]. *Cytotechnology*, 2019, 71(1): 461-473
- [20] Pires WC, Lima BAV, de Castro Pereira F, et al. Ru(II)/diphenylphosphine/pyridine-6-thiolate complexes induce S-180 cell apoptosis through intrinsic mitochondrial pathway involving inhibition of Bcl-2 and p53/Bax activation [J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 438 (1-2): 199-217
- [21] Tian YS, Zhong D, Liu QQ, et al. Upregulation of miR-216a exerts neuroprotective effects against ischemic injury through negatively regulating JAK2/STAT3-involved apoptosis and inflammatory pathways[J]. *J Neurosurg*, 2018, 130(3): 977-988
- [22] Hou Y, Wang K, Wan W, et al. Resveratrol provides neuroprotection by regulating the JAK2/STAT3/PI3K/AKT/mTOR pathway after stroke in rats[J]. *Genes Dis*, 2018, 5(3): 245-255
- [23] 黄丽群, 谢龙, 张冠杰, 等. 白藜芦醇下调 E 盒结合锌指蛋白 1 表达对甲状腺癌细胞侵袭、迁移的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(15): 2035-2038
- [24] Bhat KP, Pezzuto JM. Cancer chemopreventive activity of resveratrol [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2002, 957(7): 210-229
- [25] Ren J, Liu J, Sui X. Correlation of COX-2 and MMP-13 expressions with gastric cancer and their effects on prognosis [J]. *J BUON*, 2019, 24(1): 187-193
- [26] Jin W. Roles of TrkC Signaling in the Regulation of Tumorigenicity and Metastasis of Cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(1): 1123-1134
- [27] Jin W. Role of JAK/STAT3 Signaling in the Regulation of Metastasis, the Transition of Cancer Stem Cells, and Chemoresistance of Cancer by Epithelial-Mesenchymal Transition [J]. *Cells*, 2020, 9 (1): 246-251
- [28] Ge X, Liu W, Zhao W, et al. Exosomal Transfer of LCP1 Promotes Osteosarcoma Cell Tumorigenesis and Metastasis by Activating the JAK2/STAT3 Signaling Pathway [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 21(4): 900-915
- [29] Chen J, Chen Z. Downregulation of miR-19a inhibits the proliferation and promotes the apoptosis of osteosarcoma cells by regulating the JAK2/STAT3 pathway[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(5): 173-182
- [30] Ding X, Lu D, Fan J. A natural product phillygenin suppresses osteosarcoma growth and metastasis by regulating the SHP-1/JAK2/STAT3 signaling[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2021, 85(2): 307-314