

# 丁香提取物通过调控细胞周期促进卵巢癌细胞增殖

冉黔川\*, 廖德仲#

贵州中医药大学基础医学院, 贵州 贵阳

收稿日期: 2024年3月27日; 录用日期: 2024年4月21日; 发布日期: 2024年4月28日

## 摘要

研究酒精丁香提取物(Alcohol Extract of Clove, AEC)对人源性卵巢癌细胞A2780增殖抑制和周期的影响及其潜在的作用机制。方法: CCK8法检测A2780卵巢癌细胞经AEC作用后的增殖情况; 克隆形成检测A2780细胞群体依赖性情况, 软琼脂克隆法检测AEC作用后的成团能力; Transwell试验检测与划痕实验细胞迁移情况; 流式细胞术检测细胞周期情况。结果: CCK8实验结果提示AEC具有抑制卵巢癌细胞的增殖活性, 并呈浓度依赖性; 平板克隆与软琼脂克隆结果说明了AEC抑制卵巢癌细胞的生长; 划痕实验和Transwell实验结果显示AEC作用卵巢癌细胞后抑制了迁移能力卵巢癌细胞经AEC处理后显微镜观察细胞形态发生变化并促进细胞的凋亡。流式细胞周期结果显示AEC可以引起G1期和S期增多。结论: AEC对卵巢癌细胞系有增殖抑制的作用, 抑制细胞迁移并促进卵巢癌的凋亡并改变卵巢癌细胞的形态, 将周期抑制在G1期和S期。

## 关键词

酒精丁香提取物, 卵巢癌, 周期, 增殖

# Clove Extract Promoted the Proliferation of Ovarian Cancer Cells by Regulating Cell Cycle

Qianchuan Ran\*, Dezhong Joshua Liao#

Basic Medical College, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

Received: Mar. 27<sup>th</sup>, 2024; accepted: Apr. 21<sup>st</sup>, 2024; published: Apr. 28<sup>th</sup>, 2024

\*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 冉黔川, 廖德仲. 丁香提取物通过调控细胞周期促进卵巢癌细胞增殖[J]. 临床医学进展, 2024, 14(4): 2330-2339. DOI: 10.12677/acm.2024.1441299

## Abstract

Exploring the potential mechanism of action of alcoholic extract of clove (AEC) in inhibiting proliferation and cycling of human ovarian cancer A2780 cells, this paper seeks to investigate its effect. The CCK8 assay indicated that AEC had a concentration-dependent effect on ovarian cancer cell proliferation; plate cloning and soft agar cloning revealed that AEC inhibited ovarian cancer cell growth; and the scratch assay and Transwell assay demonstrated that AEC had a hindrance on ovarian cancer cell migration following AEC treatment. The results of cell cycle analysis showed that AEC induced growth in G1 and S phases. To sum up, AEC hinders the growth of ovarian cancer cell lines, obstructs cell movement, encourages apoptosis, modifies the shape of ovarian cancer cells, and impedes the G1 and S phases of the cell cycle.

## Keywords

Alcohol Clove Extract, Ovarian Cancer, Cycle, Proliferation

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

卵巢癌死亡率高达 4.4%，是所有女性癌症死亡的八大原因之一[1]，许多病人检查出来时已经是晚期[2]，过去的二十年中，卵巢癌总体死亡率趋于稳定，但世界范围内死亡率仍然很高，导致卵巢癌成为最致命的妇科恶性肿瘤之一[3]。卵巢癌治疗失败的主要原因之一是化疗耐药，研究卵巢癌化疗耐药的机制和开发新的治疗靶点具有重要意义[4]。中草药在治疗肿瘤方面有着不良反应小、多靶点、多成分等特性，中草药治疗是一种以系统生物学为基础的、全面综合的治疗方法，因此正日益受到国内外的重视[5]。丁香是一种在热带和亚热带国家广泛种植的芳香植物[6]，目前药理研究表明，丁香有抗炎[7]、抗病毒[8]、抗菌[9]、杀虫、抗氧化[10]、镇痛[11]和抗肿瘤[12]等多种功能。根据已知的资料，丁香的活性成分对许多癌症均有抑制作用，如对肺癌、乳腺癌、肝癌、胰腺癌、卵巢癌和宫颈癌等肿瘤细胞具有抑制作用[13] [14]。因此，本次研究旨在探索 AEC 在卵巢癌中的生长调控、凋亡机制、转化过程、克隆产生机制，并且探索它们与癌细胞的复杂交互，从而为开发出一种安全、有效的中药丁香治疗卵巢癌的方法提供实验室依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验材料

#### 2.1.1. 细胞

卵巢癌细胞 A2780 购买自 ATCC (American Type Culture Collection)。

#### 2.1.2. 试剂

丁香酒精粗提取物(AEC): 干燥丁香花蕾购买于贵州中医药大学第二附属医院，精准电子天平称取 1 g 干燥的丁香花蕾，加入 5 ml 的 95%酒精进行配制，室温下提取两周后将溶液转移至新的 15 ml 离心管中，将其为 100%的提取物。避光保存在-20℃冰箱，以备后续实验使用。

### 2.1.3. 仪器

恒温恒湿培养箱购于美国 Thermo 公司; 苏州净化购买超净工作台; 上海一恒科学仪器有限公司购买恒温水浴锅; 北京百乐科技有限公司购买酶标仪; 流式细胞仪 BDFACSVEPCR 扩增仪购 BD Medical Technology 公司; 海尔集团购买-80℃超低温冰箱; 海尔集团购买-20℃冰箱。

## 2.2. 方法

### 2.2.1. 细胞培养

将人源系卵巢癌 A2780 细胞用 5 ml 的胎牛血清与 45 ml DMEM 高糖培养基配置成 10% 的培养液在温度为 37℃ 的恒温培养箱中进行培养, 倒置显微镜观察 A2780 细胞形态及生长情况等, 当卵巢癌细胞密度长至 80%~90% 时使用胰酶消化液进行消化与传代

### 2.2.2. CCK8 法检测 ACE 对细胞存活的影响及影响方式

取对数生长期 A2780 细胞每孔  $2 \times 10^3$  个细胞种于 96 孔板, 放置培养箱待其细胞贴壁; 加入 0.2% 酒精的 DMEM 培养基, 0.05%、0.1%、0.2% AEC 的培养液, 将每个浓度分别设 6 个复孔, 培养三天将含有药物孔及对照和空白孔用移液器轻轻吸走, 根据实验的具体孔数, 用含 5% FBS 的培养液按照 10% 的比例配 CCK8 试剂, 在每个孔加入 0.1 ml 配好的试剂后培养箱继续孵育 1~2 h, 使用酶标仪在 450 nm 吸光度的 OD 值测定各个孔细胞, 计算出卵巢癌细胞的增殖活性, 数据统计。

### 2.2.3. 克隆形成

取对数生长期 A2780 细胞计数每孔以 1000 个接种于 6 孔板, 放置恒温培养箱中过夜贴壁后进行不同浓度 AEC 进行加药处理, 处理 72 h 后, 去含药培养基, 更换含 5% 血清培养基, 每隔三四天或培养基变黄更换培养液, 培养 1~2 周左右直到肉眼可见的克隆时终止培养, 去掉原有培养基, 用 PBS 清洗两遍, 甲醛溶液固定细胞半小时后弃去风干用, 结晶紫染色半小时后用拍照, 数据统计。

### 2.2.4. 软琼脂克隆形成实验

称取 0.7 g 低熔点琼脂糖和 1.2 g 常熔点的琼脂糖, 分别放入提前灭菌的 250 ml 试剂瓶, 并加入 100 ml 的高糖 DMEM, 对两种琼脂糖混合液进行高压灭菌处理, 灭菌后在 4℃ 冰箱保存, 实验时可直接加热到完全溶解。将提前制备好的 1.2% 的琼脂糖, 拧松瓶盖后在微波炉中加热, 直到琼脂完全溶解, 溶液澈。融化好的常熔点琼脂溶液与 20% FBS 的培养液同时放在 42℃ 的水浴锅中, 避免凝固。每孔有足够的混合物, 每个 6 孔板共准备 14 ml 的混合液, 在 50 ml 离心管中加入 7 ml 含 20% FBS 的培养液, 再加入 7 ml 浓度为 1% 的常熔点琼脂溶液, 再加 95% 酒精对照和 0.2% AEC (V/V), 倒置几次混匀。混合均匀的凝胶按每孔 2 ml 加入六孔板中, 将气泡上升到离心管的顶部, 避免气泡出现在孔板中, 盖上六孔板, 将六孔板置于室温中 30 min, 使其混合物凝固。显微镜观察细胞生长至 80% 左右, 将细胞消化, 终止消化, 重悬, 细胞计数, 以 5000/孔的细胞密度种植。将浓度为 0.7% 的低熔点琼脂糖溶液按照步骤 3 融化。将 7 ml 浓度为 0.7% 的低熔点琼脂糖溶液与 7 ml 含有细胞的 20% FBS 培养基按照 1:1 的比例混合。将 2 ml 含有细胞悬液的琼脂糖混合液, 放入每孔中, 避免有气泡的产生, 盖上六孔板, 孔板置于室温凝固后, 培养箱中继续培养。约 14 天后, 克隆通过肉眼能看到时, 即停止培养。

### 2.2.5. 细胞划痕实验

1) 用 marker 笔在板背后每隔 0.5~1 cm 用直尺划横线, 每隔 0.5~1 cm 一道; 取对数生长期 A2780 细胞以 20,000 个/孔接种于 6 孔板, 贴壁后用 10 ul 枪头垂直于细胞平面, 沿着一天前划在 6 孔板背面的线在细胞层上划痕, 划线完成后使用 PBS 漂 3 次细胞, 将洗去不贴壁的细胞, 更换培养基, 同时加入不同

浓度丁香醇提取物, 用 5% FBSDMEM 培养基稀释成对应的浓度, 对照组用 95% 乙醇溶剂。显微镜下观察边界清晰的划痕, 取 0 h、72 h 显微镜下进行拍照。

### 2.2.6. 流式细胞术检测细胞周期

显微镜观察细胞密度在 80% 左右时, 消化细胞计数后, 以  $2 \times 10^5$ /皿密度分别种在 6 个 6 厘米皿里, 混匀后, 放于 37°C 和 39°C 水套式培养箱中, 贴壁后, 加入 0.2% AEC (V/V) 和 95% 酒精对照处理 72 h。2) 72 h 后弃去原有的含药培养液, PBS 洗涤两次, 换成不含 FBS 的高糖 DMEM 培养液做饥饿培养 24 h, 然后恢复血清 4 h 后, 用预冷的 PBS 洗涤两遍细胞, 胰酶消化收集细胞, 离心弃去上清, 加入 500  $\mu$ l 预冷的 70% 乙醇, 进行细胞固定, 固定一周左右, 轻柔防止损伤细胞。3) 染色前, 弃去预冷的 70% 乙醇, PBS 洗涤一次, 1000 rpm 5 min 离心, 离心后, 弃去 PBS, 加入提前配好的染色工作液(染色缓冲液: 碘化丙啶 PI 染色液: RNaseA = 100:5:2)。4) 加入 500  $\mu$ l 染色工作液在每个管中, 并轻柔的将细胞吹散重悬, 室温避光 30 min, 染色后可放于 4°C 存放, 尽量在 24 h 内上机检测, 统计数据。

### 2.2.7. 细胞形态的观察

显微镜观察细胞系生长至 70%~80% 密度时, 胰酶消化后终止消化, 对细胞进行计数, 调整细胞密度  $3 \times 10^5$ /ml~ $5 \times 10^5$ /ml 接种于 6 孔板中, A2780 细胞贴壁后, 按照等体积比例加入 0.2% AEC, 细胞经过丁香酒精提取物处理 72 h 后, 在倒置显微镜下观看卵巢癌细胞系的形态变化情况, 并拍照记录。

### 2.2.8. hoeschst33258 实验

卵巢癌过夜贴壁后, 弃去原有培养液, 加入 0.2% AEC (V/V), 95% 酒精对照作为对照。三天之后, 根据所需的体积, 使用 PBS 制备 10~50  $\mu$ M 染色液, 然后以 1:10 的比例添加 Hoechst 染料溶液, 并继续培养细胞, 大约持续 15 分钟, 最后用 PBS 进行两次漂洗。鉴于 Hoechst 33258 可能会对人体造成不良影响, 为了保证安全, 建议采取个人防护措施。此外, 荧光染料可能会淬灭, 因此, 在染色后应立即进行检测。为了更准确地观察细胞, 建议使用带有 350 nm 激发波长和 460 nm 发射波长的滤光荧光显微镜, 并进行拍照记录。

### 2.2.9. 统计学分析

实验重复三次, 实验数据用 GraphPadPrism8.0 分析差异, 数据分析方法两组均数比较运用 T 检验分析, 多组之间比较采用多样本均数的单因素方差分析。所有数据均为计量资料, 用  $x \pm s$  表示。\*代表  $P < 0.05$ 、\*\*代表  $P < 0.01$ 、\*\*\*代表  $P < 0.001$ , 当  $P < 0.05$  具有统计学差异, 当  $P > 0.05$  时, 表示差异无统计学意义。

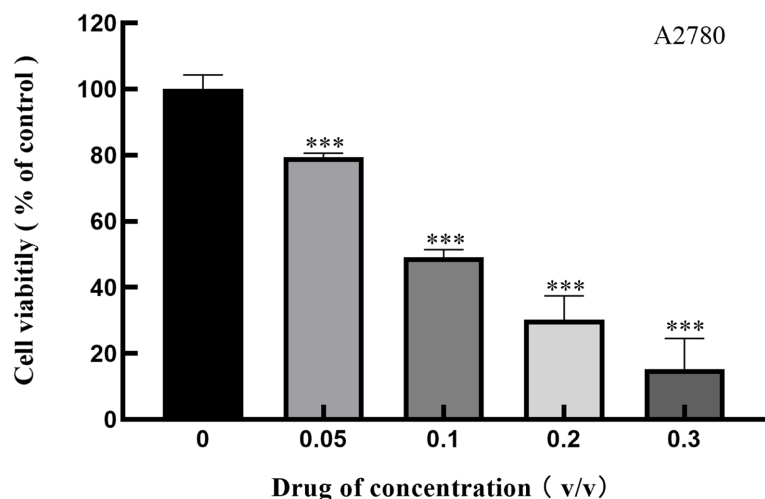
## 3. 结果

### 3.1. AEC 对卵巢癌的细胞增殖的影响

使用 CCK8 的实验方法检测细胞的增殖活性, 使用丁香酒精提取物从 0.05% (V/V) 上升到 0.3% (V/V) 的浓度处理 A2780 细胞 72 小时后, 细胞在药物浓度为 0.01% 时已经达到了 LD50, AEC 随着药物浓度的不断增加细胞存活率明显降低。差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), 提示 AEC 具有抑制细胞的增殖活性, 并呈浓度依赖性(图 1)。

### 3.2. AEC 对卵巢癌细胞克隆形成能力的影响

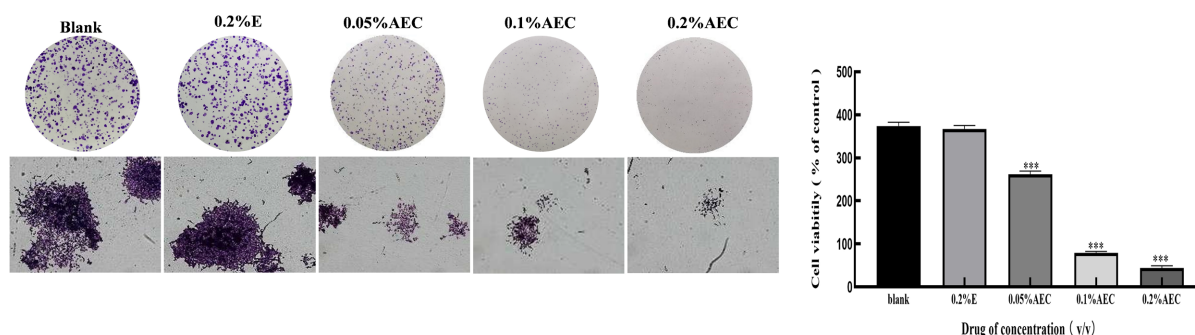
利用克隆形成试验检测 AEC 对卵巢癌细胞群体依赖性与细胞增殖生长能力, 从 0.05%~0.2% (V/V) 处理 A2780 细胞三天, 去除 AEC 后继续培养 6 天。实验结果显示, 与对照组比, 丁香抑制细胞的生长, 显微镜下观察有更多的死亡细胞。差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), 提示随着丁香浓度的增加, 集落形成的数量减少, 抑制效果呈浓度依赖性。差异均具有显著统计学意义(图 2)。



注: 加入不同浓度的 AEC 处理卵巢癌 A2780 细胞三天后 CCK8 检测对 A2780 细胞的增殖的影响(\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ )

**Figure 1.** CCK8 assay to detect the proliferative activity of ethanolic extract of clove (AEC) to inhibit ovarian cancer cell lines

**图 1.** CCK8 法检测丁香酒精提取物(AEC)抑制卵巢癌细胞系的增殖活性



注: 加入不同浓度的 AEC 处理 72 h, 继续培养 7 天, 结晶紫染色, 拍照记录, 计算统计克隆形成能力(\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ )

**Figure 2.** AEC inhibits clone formation of ovarian cancer cells

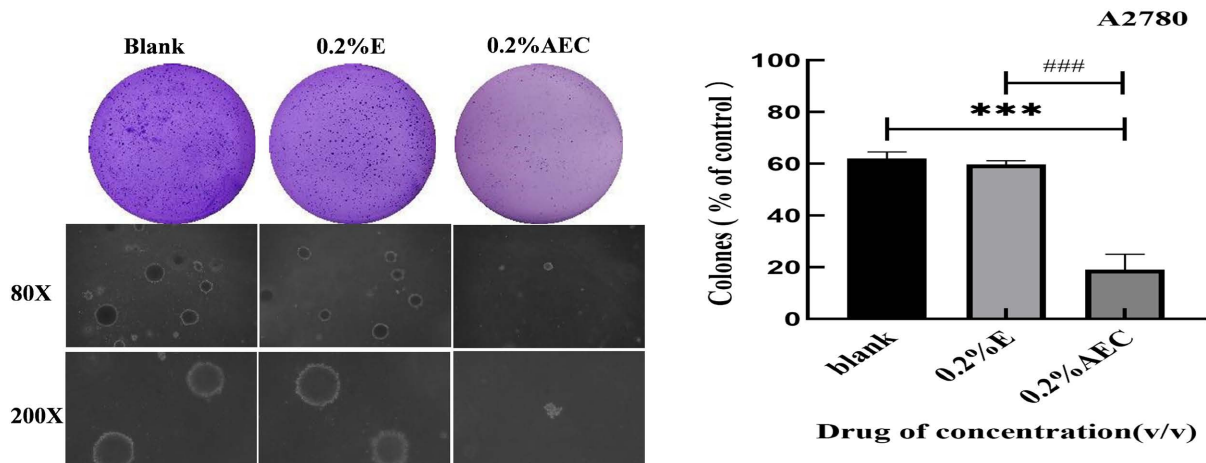
**图 2.** AEC 抑制卵巢癌细胞的克隆形成

### 3.3. AEC 对卵巢癌细胞在软琼脂中生长的影响

我们使用软琼脂克隆实验模仿体内肿瘤生长, 显微镜下观察 A2780 细胞的状态, 第一天刚接种细胞时, 细胞呈单个的圆形且透光度好, 均匀分布在软琼脂中。经过一周的培养, 克隆团的形态发生了巨大的变化, 从镜下观察, 它们呈现出球形的外观, 而且有一定的规律性。随着克隆的不断增大, 倒置显微镜下可以看到, 它们的边缘处出现了较大的空隙, 使得细胞团变得更加疏松。软琼脂培养 21 天左右, 镜下拍照后拿出结晶紫染色。实验结果表明, 与空白组和溶剂组相比, 加入 0.2% AEC 后细胞成团能力明显变少和变小。提示 AEC 可以影响细胞形成软琼脂克隆的形成, 抑制卵巢癌细胞的生长, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ) (图 3)。

### 3.4. AEC 对卵巢癌细胞迁移能力的影响

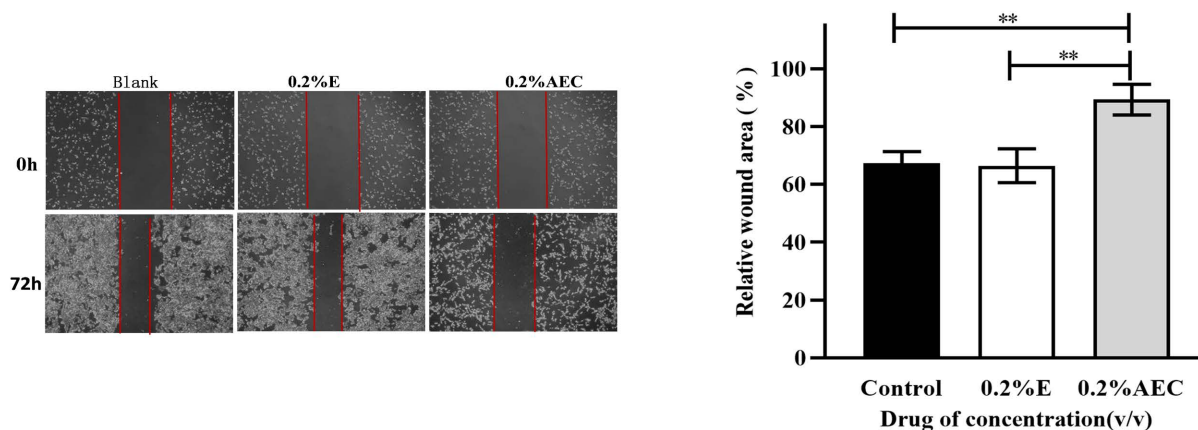
分别采用划痕实验和 Transwell 小室实验探究 AEC 对卵巢癌细胞株迁移能力的影响, 划痕结果提示: 0.2% AEC 抑制了卵巢癌细胞的迁移能力, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 提示 AEC 有抑制细胞迁移的能力(图 4), Transwell 实验再次验证了 AEC 具有抑制细胞迁移的能力(图 5)。



注: 培养三个星期后镜下拍照记录并将其取出进行结晶紫染色, 计算统计成团能力(\*\*\* $P < 0.001$ , ### $P < 0.001$ )

**Figure 3.** Inhibition of ovarian cancer cell growth by AEC in soft agar

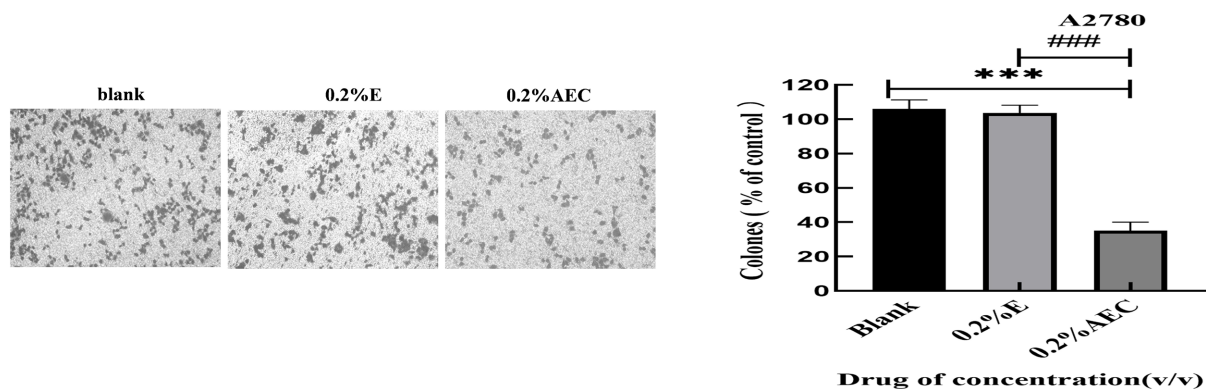
**图 3.** AEC 在软琼脂中抑制卵巢癌细胞的生长



注: 加入 0.2% AEC 72 h 后, 对其迁移能力的影响, 划痕的宽度拍照( $\times 80$ ), 计算统计划痕的面积(\*\* $P < 0.01$ )

**Figure 4.** Effect of 0.2% AEC on the migration ability of ovarian cancer cells

**图 4.** 0.2% AEC 对卵巢癌细胞的迁移能力的影响



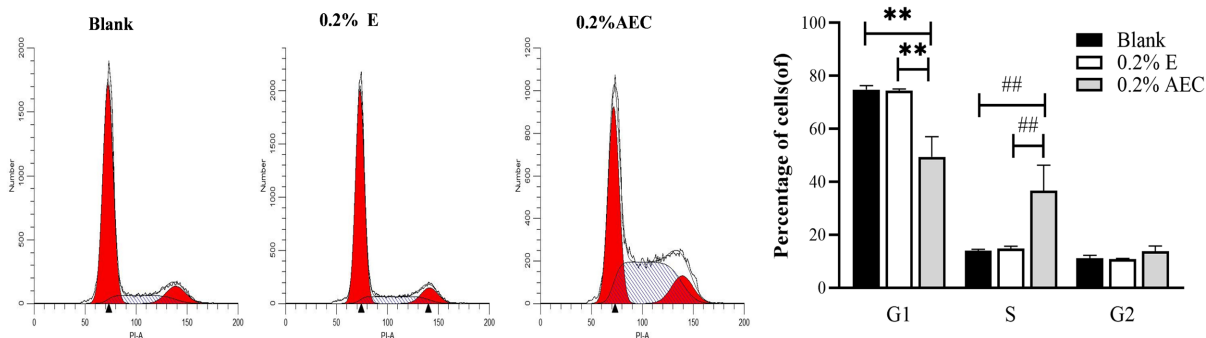
注: 0.2% AEC 处理 72 h 后对卵巢癌迁移能力的影响, 在显微镜下观察丁香酒精粗提取物处理后, 迁移到下室的细胞数, 计算统计迁移到下室的细胞数目(\*\*\* $P < 0.001$ , ### $P < 0.001$ )

**Figure 5.** Effects of control group and 0.2% AEC on migration of ovarian cancer cells

**图 5.** 对照组与 0.2% AEC 对卵巢癌细胞迁移的影响

### 3.5. AEC 对卵巢癌细胞周期的影响

为探究 AEC 抑制卵巢癌细胞的增殖是否与细胞周期相关, AEC 处理卵巢癌细胞 72 h 后, 使用流式细胞仪检测其细胞周期, 结果显示, 与对照组相比, A2780 细胞在经 0.2% AEC 浓度处理 72 h 后发现在 G1 期的细胞数量与 S 期的细胞均增, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) (图 6)。



注: 加入 AEC 三天后流式细胞仪检测细胞的周期的变化。(\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ )

Figure 6. Effect of AEC on cell cycle of ovarian cancer cells

图 6. AEC 对卵巢癌细胞周期的影响

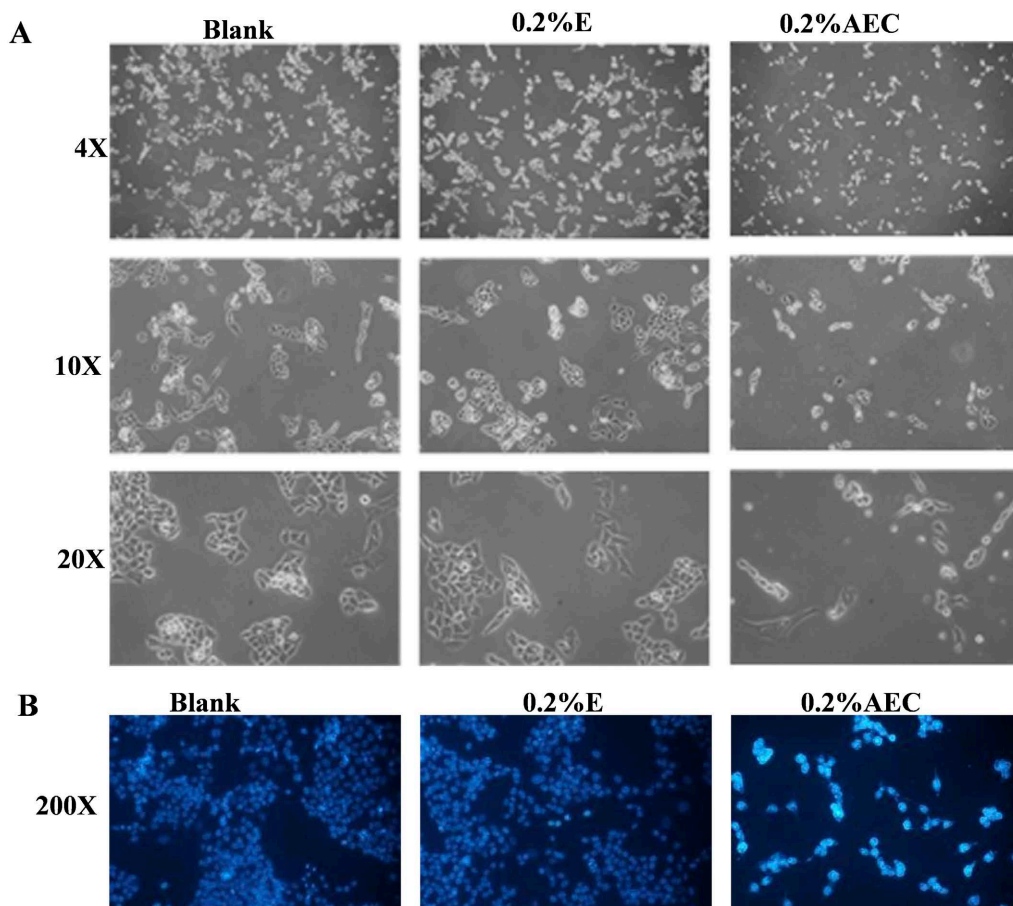


Figure 7. Microscopic observation of the changes of cell morphology and nuclei of ovarian cancer cells by alcohol extract of clove

图 7. 显微镜观察丁香酒精提取物对卵巢癌细胞细胞形态及细胞核的改变

### 3.6. AEC 对细胞形态的改变并诱导卵巢癌细胞凋亡

经 ACE 处理 A2780 细胞 72 h 后, 显微镜下观察到: 对照组相比, 可以清楚地发现, 经 AEC 处理后的细胞生长状态明显不佳, 表现为细胞萎缩, 细胞形态不规则, 贴壁能力变弱, 部分漂浮, 细胞核多见固缩, 细胞间隙变大(图 7A)。使用 Hoechst33258 进一步检测, 发现细胞核染色增强, 荧光更为明亮, 呈圆状或固缩状、团块状结构, 凋亡小体和核碎裂等现象(图 7B)。实验结果提示 AEC 具有诱导卵巢癌细胞凋亡的能力。

## 4. 讨论

随着医学模式不断的转变, 肿瘤治疗已从单纯的消灭肿瘤开始转变为治疗肿瘤时最大程度的保护肿瘤患者内环境平衡, 调节患者免疫功能, 减少药物对机体正常生理功能的损伤, 在控制和消灭肿瘤的同时提高生存质量。大量研究表明, 如沈敏鹤复方附苓汤[15], 姜黄[16]、苦参[17]、莪术[18]等中医药在卵巢癌综合治疗中呈现出较好疗效, 可抑制卵巢癌转移、提高机体免疫功能、减轻化疗的不良反应, 从而显著改善患者的生存质量, 延长患者的存活期[19]。丁香始载于《药性论》, 味辛, 性温, 归脾、胃、肺、肾经, 它的功效为温中降逆, 散寒止痛, 温肾助阳。作为国家相关部门批准的第一批药食同源药物, 被广泛应用于医药、香料和调味剂产业。研究发现丁香具有抗炎、抗病毒、抗菌、杀虫、抗氧化、镇痛和抗肿瘤等作用, 并且在多种肿瘤中均有不错的疗效[13]。本实验探索 AEC 是否能抑制卵巢癌细胞的生长增殖、迁移及周期等, 以期对临床上中药丁香提供实验依据。

我们将 A2780 细胞在 37℃ 的培养箱进行培养, 加入不同浓度的 AEC 培养 72 小时后通过 CCK8 检测增殖活性, 结果提示 AEC 对多种卵巢癌细胞具有抑制增殖的作用, 并且呈浓度依赖性。为进一步验证 AEC 对卵巢癌细胞的增殖抑制作用, 我们使用了平板克隆技术, 经结晶紫染色后结果发现空白对照组、溶剂对照组, 加药组细胞菌落变得小且非常少。软琼脂克隆形成实验采用肿瘤细胞系或转化细胞系, 通过观察细胞在软琼脂中的细胞集落形成能力, 对其可能发生转化并在动物体内的成瘤性潜能进行评价, 很好的模拟了体内生长, 我们经过 AEC 处理后卵巢癌细胞后发现与对照组相比, 细胞的成球能力下降。

卵巢癌因缺少早期筛查手段与明显的临床症状, 绝大多数患者在确诊时已是晚期[20], 并且伴有扩散和转移, 肿瘤的扩散转移表现为肿瘤细胞迁移和侵袭能力增强, 增殖速度加快, 倍增时间缩短等等。我们利用划痕实验与 Transwell 迁移实验检测 AEC 卵巢癌细胞迁移的影响, 两个实验结果均显示: 与对照组相比, AEC 明显抑制细胞的迁移的能力。

影响细胞增殖的原因非常的多, 细胞周期蛋白(Cyclin)与细胞周期依赖性激酶(CDKs)在细胞周期中起着重要作用[21], CDK 与 cyclin 结合形成异二聚体, CDK 作为催化亚基, cyclin 作为调节亚基, 不同的 cyclin—CDK 复合物, 通过 CDK 活性, 调节不同底物磷酸化从而实现对细胞周期不同时相的推进和转化作用。两者的表达量增加促进细胞的增殖, 反之抑制细胞的增殖, 在恶性肿瘤细胞中通常两者的高表达导致了细胞的增殖不受控[22]。我们用流式检测细胞周期探究 AEC 对卵巢癌具体发生哪个周期阻滞, 流式周期结果显示卵巢癌细胞在经 0.2% AEC 浓度处理 72 h 时后, G1 期的细胞数量与 S 期的细胞均增加, S 期细胞数量增加尤为明显。

细胞凋亡是调控细胞死亡的一种进化保守形式, 通常涉及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶家族的半胱氨酸蛋白酶, 在正常细胞生长和衰老过程中发生在多细胞生物中, 作为肿瘤中研究最多的调控细胞死亡的形式, 凋亡既涉及细胞死亡受体(外源性途径), 也涉及线粒体(内源性途径) [23]。细胞收缩、染色质凝集与细胞破碎是凋亡形态学特征, 产生凋亡小体。在显微镜下观察加药后卵巢癌细胞形态, 发现经 AEC 处理后的卵巢癌细胞生长状态明显不如未加药的细胞, 细胞萎缩且形态不规则, 贴壁能力变弱, 漂浮细胞碎片增加, 细胞核多见固缩, 细胞间隙变大, 用 Hoechst33258 染色后加入 AEC 后发现卵巢癌细胞的



染色荧光更为明亮, 呈圆状或固缩状、团块状结构, 凋亡小体和核碎裂等现象, 染色结果提示 AEC 会诱导卵巢癌细胞凋亡。

## 5. 结论

综上, CCK8 与克隆形成实验结果说明 AEC 对卵巢癌细胞有抑制增殖的作用, 且随着药物浓度的增加抑制作用增强, 并呈浓度依赖性, 划痕实验与 Transwell 实验结果证明了 AEC 对卵巢癌细胞的迁移起抑制作用, 通过流式细胞仪检测在 AEC 的作用下导致卵巢癌细胞周期阻滞在 G1 期和 S 期, 其效果更明显; hoechst33258 染色结果提示 AEC 会诱导卵巢癌细胞凋亡的能力, 对于 AEC 抗肿瘤的具体机制, 我们还需要进一步的研究。

## 基金项目

以髓外浆细胞瘤为模型研究 RSK4 在 Myc-PVT1 致癌中的作用, 项目编号: 82060489。

## 参考文献

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Katiyi, A., Zorea, J., Halstuch, A., *et al.* (2020) Surface Roughness-Induced Absorption Acts as an Ovarian Cancer Cells Growth Sensor-Monitor. *Biosensors & Bioelectronics*, **161**, Article 112240. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112240>
- [3] Xiao, Y., Yu, Y., Jiang, P., *et al.* (2020) The PI3K/MTOR Dual Inhibitor GSK458 Potently Impedes Ovarian Cancer Tumorigenesis and Metastasis. *Cellular Oncology*, **43**, 669-680. <https://doi.org/10.1007/s13402-020-00514-8>
- [4] Wang, Z., Chen, W., Zuo, L., *et al.* (2022) The Fibrillin-1/VEGFR2/STAT2 Signaling Axis Promotes Chemoresistance via Modulating Glycolysis and Angiogenesis in Ovarian Cancer Organoids and Cells. *Cancer Communications*, **42**, 245-265. <https://doi.org/10.1002/cac2.12274>
- [5] Leng, J., Lei, L., Lei, S.F., *et al.* (2020) Use of Traditional Chinese Herbal Medicine Concurrently with Conventional Cancer Treatment among Chinese Cancer Patients. *Journal of Immigrant and Minority Health*, **22**, 1240-1247. <https://doi.org/10.1007/s10903-020-01017-2>
- [6] Haro-González, J.N., Castillo-Herrera, G.A., Martínez-Velázquez, M., *et al.* (2021) Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*, **26**, Article 6387. <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>
- [7] Hui, Q., Ammeter, E., Liu, S., *et al.* (2020) Eugenol Attenuates Inflammatory Response and Enhances Barrier Function during Lipopolysaccharide-Induced Inflammation in the Porcine Intestinal Epithelial Cells. *Journal of Animal Science*, **98**, Article skaa245. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa245>
- [8] De Oliveira, A.S., Gazolla, P.A.R., Oliveira, A., *et al.* (2019) Discovery of Novel West Nile Virus Protease Inhibitor Based on Isobenzonafuranone and Triazolic Derivatives of Eugenol and Indan-1,3-Dione Scaffolds. *PLOS ONE*, **14**, e0223017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223017>
- [9] Hu, Q., Zhou, M. and Wei, S. (2018) Progress on the Antimicrobial Activity Research of Clove Oil and Eugenol in the Food Antisepsis Field. *Journal of Food Science*, **83**, 1476-1483. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14180>
- [10] Barboza, J.N., Da Silva Maia Bezerra Filho, C., Silva, R.O., *et al.* (2018) An Overview on the Anti-Inflammatory Potential and Antioxidant Profile of Eugenol. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2018**, Article ID: 3957262. <https://doi.org/10.1155/2018/3957262>
- [11] Taher, Y.A., Samud, A.M., El-Taher, F.E., *et al.* (2015) Experimental Evaluation of Anti-Inflammatory, Antinociceptive and Antipyretic Activities of Clove Oil in Mice. *Libyan Journal of Medicine*, **10**, Article 28685. <https://doi.org/10.3402/ljm.v10.28685>
- [12] Liu, H., Schmitz, J.C., Wei, J., *et al.* (2014) Clove Extract Inhibits Tumor Growth and Promotes Cell Cycle Arrest and Apoptosis. *Oncology Research*, **21**, 247-259. <https://doi.org/10.3727/096504014X13946388748910>
- [13] Chua, L.K., Lim, C.L., Ling, A.P.K., *et al.* (2019) Anticancer Potential of *Syzygium* Species: A Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, **74**, 18-27. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0704-z>
- [14] Vázquez-Fresno, R., Rosana, A.R.R., Sajed, T., *et al.* (2019) Herbs and Spices-Biomarkers of Intake Based on Human

---

Intervention Studies—A Systematic Review. *Genes & Nutrition*, **14**, Article No. 18.

<https://doi.org/10.1186/s12263-019-0636-8>

- [15] 黄宏, 陶方方. 沈敏鹤复方附苓汤治疗卵巢癌经验研究[J]. 中国医药导报, 2023, 20(6): 132-135.
- [16] Shin, Y. and Lee, Y. (2013) Cytotoxic Activity from *Curcuma zedoaria* through Mitochondrial Activation on Ovarian Cancer Cells. *Toxicological Research*, **29**, 257-261. <https://doi.org/10.5487/TR.2013.29.4.257>
- [17] 王兴玲, 于明新. 苦参碱联合胸腺五肽对卵巢癌腹腔热化疗大鼠免疫功能的影响[J]. 实用药物与临床, 2017, 20(1): 4-8.
- [18] 汤欣, 韩凤娟, 李威, 等. 莪术醇对人卵巢癌 SKOV3 细胞株 JAK2/STAT3 信号通路影响的研究[J]. 中国妇产科临床杂志, 2013, 14(1): 43-46.
- [19] 李悦, 张艳, 郭滢, 等. 卵巢癌的中医药研究应用进展[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(1): 194-196.
- [20] Barani, M., Bilal, M., Sabir, F., *et al.* (2021) Nanotechnology in Ovarian Cancer: Diagnosis and Treatment. *Life Sciences*, **266**, Article 118914. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118914>
- [21] Matthews, H.K., Bertoli, C. and De Bruin, R.A.M. (2022) Cell Cycle Control in Cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **23**, 74-88. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00404-3>
- [22] Fagundes, R. and Teixeira, L.K. (2021) Cyclin E/CDK2: DNA Replication, Replication Stress and Genomic Instability. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **9**, Article 774845. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.774845>
- [23] Carneiro, B.A. and El-Deiry, W.S. (2020) Targeting Apoptosis in Cancer Therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **17**, 395-417. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0341-y>