

## · 论著 ·

## 奥利司他对人胆囊癌细胞活性的影响

程海鸿<sup>1</sup> 孙玉鑫<sup>1</sup> 于小鹏<sup>2</sup> 王寿华<sup>2</sup> 丁俊<sup>3</sup> 周迪<sup>4</sup> 张晓宇<sup>2</sup> 王健东<sup>2</sup> 施伟斌<sup>2</sup>  
马飞<sup>1</sup>

<sup>1</sup>上海交通大学附属新华医院肿瘤科, 上海 200092; <sup>2</sup>上海交通大学附属新华医院普通外科, 上海 200092; <sup>3</sup>上海中医药大学附属曙光医院胆胰外科, 上海 201203; <sup>4</sup>上海同济大学附属第十人民医院肝胆外科, 上海 200072

通信作者: 马飞, Email: mafei@xinhumed.com.cn

**【摘要】 目的** 探讨奥利司他对人胆囊癌细胞活性的影响。**方法** 采用实验研究方法。通过体外培养人胆囊癌 NOZ、GBC-SD、SGC-996 细胞, 筛选出高表达 FASN 的人胆囊癌 NOZ 细胞采用细胞增殖、细胞克隆形成和蛋白检测实验, 分析奥利司他对人胆囊癌细胞活性的影响。人胆囊癌 NOZ 细胞分组: 加入培养基设为 NOZ 细胞对照组, 加入培养基+10  $\mu\text{mol/L}$  奥利司他设为奥利司他低浓度组; 加入培养基+100  $\mu\text{mol/L}$  奥利司他, 设为奥利司他高浓度组。观察指标: (1) FASN 蛋白在人胆囊癌细胞中的表达情况。(2) 奥利司他对人胆囊癌 NOZ 细胞增殖的影响。(3) 奥利司他对人胆囊癌 NOZ 细胞凋亡的影响。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 AVONA 检验, 两两比较采用最小显著差异法。**结果** (1) FASN 蛋白在人胆囊癌细胞中的表达情况。Western blot 检测结果显示: FASN 蛋白在人胆囊癌 NOZ、GBC-SD、SGC-996 细胞中的相对表达量分别为  $0.57 \pm 0.06$ 、 $0.12 \pm 0.04$ 、 $0.10 \pm 0.02$ , 3 者比较, 差异有统计学意义 ( $F=115.67, P<0.05$ ); NOZ 细胞分别与 GBC-SD、SGC-996 细胞比较, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。GBC-SD 细胞和 SGC-996 细胞比较, 差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。(2) 奥利司他对人胆囊癌 NOZ 细胞增殖的影响。①细胞增殖毒性实验结果显示: NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组的吸光度分别为  $2.34 \pm 0.12$ 、 $1.57 \pm 0.08$ 、 $1.07 \pm 0.13$ , 3 组比较, 差异有统计学意义 ( $F=205.88, P<0.05$ )。②细胞克隆形成实验结果显示: NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组的细胞克隆形成数目分别为  $(257 \pm 23)$  个、 $(153 \pm 11)$  个、 $(83 \pm 11)$  个, 3 组比较, 差异有统计学意义 ( $F=92.64, P<0.05$ )。③Western blot 实验结果显示: NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组中 Cyclin-D1 蛋白的相对表达量分别为  $2.31 \pm 0.10$ 、 $1.52 \pm 0.05$ 、 $1.23 \pm 0.11$ , 3 组比较, 差异有统计学意义 ( $F=120.73, P<0.05$ )。NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组中 CDK-4 蛋白的相对表达量分别为  $1.58 \pm 0.04$ 、 $1.21 \pm 0.02$ 、 $1.19 \pm 0.04$ , 3 组比较, 差异有统计学意义 ( $F=110.45, P<0.05$ )。(3) 奥利司他对人胆囊癌 NOZ 细胞凋亡的影响。Western blot 实验结果显示: NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组中 Bcl-2 蛋白的相对表达量分别为  $1.07 \pm 0.03$ 、 $0.36 \pm 0.03$ 、 $0.15 \pm 0.02$ , 3 组比较, 差异有统计学意义 ( $F=1242.93, P<0.05$ )。NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组中 Bax 蛋白的相对表达量分别为  $0.51 \pm 0.03$ 、 $0.38 \pm 0.05$ 、 $1.38 \pm 0.04$ , 3 组比较, 差异有统计学意义 ( $F=583.51, P<0.05$ )。**结论** 奥利司他可以抑制人胆囊癌 NOZ 细胞的生长, 促进其凋亡。

**【关键词】** 胆囊肿瘤; 奥利司他; 细胞增殖; 细胞凋亡; 细胞活性; 周期蛋白; 凋亡相关蛋白

**基金项目:** 上海市卫健委临床研究专项面上项目 (202040447)

#### Effects of orlistat on the viability of human gallbladder cancer cells

Cheng Haihong<sup>1</sup>, Sun Yuxin<sup>1</sup>, Yu Xiaopeng<sup>2</sup>, Wang Shouhua<sup>2</sup>, Ding Jun<sup>3</sup>, Zhou Di<sup>4</sup>, Zhang Xiaoyu<sup>2</sup>, Wang Jiandong<sup>2</sup>, Shi Weibin<sup>2</sup>, Ma Fei<sup>1</sup>

DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20230404-00149

收稿日期 2023-04-04

引用本文: 程海鸿, 孙玉鑫, 于小鹏, 等. 奥利司他对人胆囊癌细胞活性的影响[J]. 中华消化外科杂志, 2023, 22(5): 636-641. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20230404-00149.



<sup>1</sup>Department of Oncology, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200092, China; <sup>2</sup>Department of General Surgery, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200092, China; <sup>3</sup>Department of Biliary and Pancreatic Surgery, Shanghai Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; <sup>4</sup>Department of Hepatobiliary Surgery, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China

Corresponding author: Ma Fei, Email: mafei@xinhumed.com.cn

**【 Abstract 】 Objective** To investigate the effects of orlistat on the viability of human gallbladder cancer (GBC) cells. **Methods** The experimental study was conducted. The human GBC NOZ cells with high expression of FASN was screened out through in vitro cultivating human GBC-SD, SGC-996 and NOZ cells. The cell proliferation assay, clone formation assay and protein detection experiment were used to analysis of the effects of orlistat on the viability of human GBC cells. Cell grouping: NOZ cells cultured with medium were set as the control group, cultured with medium + 10  $\mu\text{mol/L}$  orlistat were set as the low-dose orlistat group, cultured with medium + 100  $\mu\text{mol/L}$  orlistat were set as the high-dose orlistat group, respectively. Observation indicators: (1) expression of FASN protein in human GBC cells; (2) effects of orlistat on the proliferation of human GBC NOZ cells; (3) effects of orlistat on apoptosis of human GBC NOZ cells. Measurement data with normal distribution were represented as  $\text{Mean} \pm \text{SD}$ , the ANOVA test was used for comparison between groups and the least significant difference method was used for pairwise comparison. **Results** (1) Expression of FASN protein in human GBC cells. Results of western blot showed that the relative expression of FASN protein in human GBC NOZ, GBC-SD and SGC-996 cells was  $0.57 \pm 0.06$ ,  $0.12 \pm 0.04$  and  $0.10 \pm 0.02$ , respectively, showing a significant difference among them ( $F=115.67$ ,  $P<0.05$ ). There were significant differences between the NOZ cells and the GBC-SD or the SGC-996 cells ( $P<0.05$ ), and there was no significant difference between the GBC-SD cells and the SGC-996 cells ( $P>0.05$ ). (2) Effects of orlistat on the proliferation of human GBC NOZ cells. ① Results of cell proliferation assay showed that the absorbance value of NOZ cells was  $2.34 \pm 0.12$ ,  $1.57 \pm 0.08$  and  $1.07 \pm 0.13$  in the control group, low-dose orlistat group and high-dose orlistat group, respectively, showing a significant difference among them ( $F=205.88$ ,  $P<0.05$ ). ② Results of clone formation assay showed that the number of NOZ cells clones was  $257 \pm 23$ ,  $153 \pm 11$  and  $83 \pm 11$  in the control group, low-dose orlistat group and high-dose orlistat group, respectively, showing a significant difference among them ( $F=92.64$ ,  $P<0.05$ ). ③ Results of western blot showed that the relative expression of Cyclin-D1 protein of NOZ cells was  $2.31 \pm 0.10$ ,  $1.52 \pm 0.05$  and  $1.23 \pm 0.11$  in the control group, low-dose orlistat group and high-dose orlistat group, respectively, showing a significant difference among them ( $F=120.73$ ,  $P<0.05$ ). The relative expression of CDK-4 protein of NOZ cells was  $1.58 \pm 0.04$ ,  $1.21 \pm 0.02$  and  $1.19 \pm 0.04$  in the control group, low-dose orlistat group and high-dose orlistat group, respectively, showing a significant difference among them ( $F=110.45$ ,  $P<0.05$ ). (3) Effects of orlistat on apoptosis of human GBC NOZ cells. Results of western blot showed that the relative expression of Bcl-2 protein of NOZ cells was  $1.07 \pm 0.03$ ,  $0.36 \pm 0.03$  and  $0.15 \pm 0.02$  in the control group, low-dose orlistat group and high-dose orlistat group, respectively, showing a significant difference among them ( $F=1\ 242.93$ ,  $P<0.05$ ). The relative expression of Bax protein of NOZ cells was  $0.51 \pm 0.03$ ,  $0.38 \pm 0.05$  and  $1.38 \pm 0.04$  in the control group, low-dose orlistat group and high-dose orlistat group, respectively, showing a significant difference among them ( $F=583.51$ ,  $P<0.05$ ). **Conclusion** Orlistat can inhibit the growth of human GBC NOZ cells and promote their apoptosis.

**【 Key words 】** Gallbladder neoplasms; Orlistat; Cell proliferation; Cell apoptosis; Cell viability; Cyclins; Apoptosis-related proteins

**Fund program:** Special Project of Clinical Research of Shanghai Municipal Health Commission (202040447)

胆囊癌是胆道系统中最常见的恶性肿瘤,预后不良,中位生存时间仅为4~7个月<sup>[1-5]</sup>。近年来,胆道系统肿瘤的发病率和致死率呈上升趋势<sup>[6-8]</sup>。2020年,全世界有>10万例胆囊癌新发病例和>8万例胆囊癌死亡病例<sup>[9]</sup>。手术是胆囊癌的主要治疗方

法,而多数胆囊癌患者诊断时已为晚期,不适合行根治性切除术<sup>[10]</sup>。理论上,基于化疗的综合治疗是延长多数晚期胆囊癌患者生存时间的主要方法。目前吉西他滨是胆囊癌一线化疗方案中的主要药物之一,但其客观缓解率仅约为30%<sup>[11-14]</sup>。因此,

临床迫切需要探索胆囊癌肿瘤进展的分子机制,开发新的治疗机会。奥利司他是一种脂肪酸合酶抑制剂,被批准用于治疗肥胖症。已有的研究结果显示:奥利司他在多种肿瘤的体内和体外模型中表现出抗肿瘤活性,且对正常细胞没有明显的毒性作用<sup>[15-16]</sup>。本研究通过体外培养人胆囊癌细胞,采用细胞增殖、克隆形成和蛋白检测实验,分析奥利司他对人胆囊癌细胞活性的影响。

## 材料与方法

### 一、实验材料与方法

采用实验研究方法。

#### (一)实验材料

人胆囊癌 NOZ、GBC-SD、SGC-996 细胞由上海交通大学附属新华医院胆道疾病研究所提供。DMEM 培养基(货号为 C11995500BT)购自美国 GIBCO 公司。细胞增殖毒性检测试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8)、胎牛血清、青霉素/链霉素(1%)、增强型化学发光试剂盒(货号分别为 40203ES80\*、40130ES76、60162ES76、SQ202)购自上海翌圣有限公司。奥利司他(货号为 HY-B0218)购自上海皓元生物医药科技有限公司。4% 多聚甲醛(货号为 BL539A)购自上海晶矿生物有限公司。结晶紫染色液(货号为 C0121)购自上海碧云天生物科技有限公司。 $\beta$ -actin、FASN 蛋白(货号分别为 AC026、A19050)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;CDK-4 抗体(货号为 144-00366)购自美国瑞博奥生物科技有限公司;Cyclin-D1 抗体(货号为 #2978)购自美国 CST 公司;Bcl-2、Bax 抗体(货号分别为 60178-1-Ig、50599-2-Ig)购自武汉三鹰生物有限公司。

#### (二)实验方法

1. 细胞培养:人胆囊癌 NOZ、GBC-SD 和 SGC-996 细胞常规在 DMEM 培养基中培养,补充 10% 胎牛血清和青霉素/链霉素(1%)。并且置于 37℃, 5% 的 CO<sub>2</sub> 的条件下培养。细胞经过常规验证,保证没有支原体污染。

2. Western blot 实验:采用蛋白提取试剂盒和 BCA 定量试剂盒对细胞进行蛋白提取和定量,操作步骤参照试剂盒说明书,按照增强型化学发光试剂盒说明书进行显影。 $\beta$ -actin 抗体按 1:10 000 稀释, FASN、CDK-4、Cyclin-D1、Bcl-2、Bax 抗体按 1:1 000 稀释。以  $\beta$ -actin 为参照,分析目的蛋白的相对表达情况。

3. FASN 高表达细胞的筛选:采用 Western blot 实验,按照上述步骤分析 FASN 蛋白在人胆囊癌 NOZ、GBC-SD 和 SGC-996 细胞中的表达情况,选用高表达的胆囊癌细胞继续完成后续实验。

4. 细胞分组:将高表达 FASN 的人胆囊癌 NOZ 细胞分为 3 组,仅加入培养基,设为 NOZ 细胞对照组;加入培养基+10  $\mu$ mol/L 奥利司他,设为奥利司他低浓度组;加入培养基+100  $\mu$ mol/L 奥利司他,设为奥利司他高浓度组。3 组细胞加入培养基后均继续培养 48 h,再进行后续实验。

5. 细胞增殖毒性实验:采用 CCK-8 法。将对数生长的人胆囊癌 NOZ 细胞接种于 6 孔板中,按照 4 的方法干预 48 h 后,将上述 3 组细胞以 1 000 个/孔均匀接种至 96 孔培养板中,每组细胞对应 5 孔细胞,于接种后 96 h 按照说明书应用 CCK-8 法测量 450 nm 波长的吸光度值。

6. 细胞克隆形成实验:将对数生长的人胆囊癌 NOZ 细胞接种于 6 孔板中,约 24 h 待细胞完全贴壁后,按照 4 的方法干预 48 h 后,将上述 3 组细胞以 1 000 个/孔均匀接种于 6 孔板,每组细胞对应 3 孔细胞,约 2 周后弃去培养基,采用 4% 多聚甲醛固定 30 min 后再用结晶紫染色液染色 30 min 后,用清水洗净结晶紫染色液,待水分干燥后进行细胞群落计数。

### 二、观察指标

(1) FASN 蛋白在人胆囊癌细胞中的表达情况:人胆囊癌 NOZ、GBC-SD、SGC-996 细胞中 FASN 蛋白的相对表达量。(2) 奥利司他对人胆囊癌 NOZ 细胞增殖的影响:3 组人胆囊癌 NOZ 细胞的吸光度、克隆形成数目以及 Cyclin-D1 蛋白和 CDK-4 蛋白的相对表达量。(3) 奥利司他对人胆囊癌 NOZ 细胞凋亡的影响:3 组人胆囊癌 NOZ 细胞中 Bcl-2 蛋白和 Bax 蛋白的相对表达量。

### 三、统计学分析

应用 SPSS 25.0 和 GraphPad Prism 9 统计软件进行分析。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 AVONA 检验,两两比较采用最小显著差异法。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、FASN 蛋白在人胆囊癌细胞中的表达情况

Western blot 检测结果显示:FASN 蛋白在人胆囊癌 NOZ、GBC-SD、SGC-996 细胞中的相对表达量分别为  $0.57 \pm 0.06$ 、 $0.12 \pm 0.04$ 、 $0.10 \pm 0.02$ , 3 者比较,



差异有统计学意义( $F=115.67, P<0.001$ ); NOZ 细胞分别与 GBC-SD、SGC-996 细胞比较, 差异均有统计学意义( $P<0.001, <0.001$ )。GBC-SD 细胞和 SGC-996 细胞比较, 差异无统计学意义( $P=0.651$ )。

## 二、奥利司他对人胆囊癌 NOZ 细胞增殖的影响

### (一) 细胞增殖毒性实验

细胞增殖毒性实验结果显示: NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组的吸光度分别为  $2.34\pm 0.12$ 、 $1.57\pm 0.08$ 、 $1.07\pm 0.13$ , 3 组比较, 差异有统计学意义( $F=205.88, P<0.001$ ); NOZ 细胞对照组分别与奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组比较, 差异均有统计学意义( $P<0.001, <0.001$ ); 奥利司他低浓度组与奥利司他高浓度组比较, 差异有统计学意义( $P<0.001$ )。

### (二) 细胞克隆形成实验

细胞克隆形成实验结果显示: NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组的细胞克隆形成数目分别为  $(257\pm 23)$  个、 $(153\pm 11)$  个、 $(83\pm 11)$  个, 3 组比较, 差异有统计学意义( $F=92.64, P<0.001$ ); NOZ 细胞对照组分别与奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组比较, 差异均有统计学意义( $P<0.001, <0.001$ ); 奥利司他低浓度组与奥利司他高浓度组比较, 差异有统计学意义( $P=0.002$ )。

### (三) Western blot 实验

1. Cyclin-D1 蛋白。NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组中 Cyclin-D1 蛋白的相对表达量为  $2.31\pm 0.10$ 、 $1.52\pm 0.05$ 、 $1.23\pm 0.11$ , 3 组比较, 差异有统计学意义( $F=120.73, P<0.001$ )。NOZ 细胞对照组分别与奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组比较, 差异均有统计学意义( $P<0.001, <0.001$ ); 奥利司他低浓度组与奥利司他高浓度组比较, 差异有统计学意义( $P=0.007$ )。

2. CDK-4 蛋白。NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组中 CDK-4 蛋白的相对表达量分别为  $1.58\pm 0.04$ 、 $1.21\pm 0.02$ 、 $1.19\pm 0.04$ , 3 组比较, 差异有统计学意义( $F=110.45, P<0.001$ )。NOZ 细胞对照组分别与奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组比较, 差异均有统计学意义( $P<0.001, <0.001$ ); 奥利司他低浓度组与奥利司他高浓度组比较, 差异无统计学意义( $P=0.575$ )。

## 三、奥利司他对人胆囊癌 NOZ 细胞凋亡的影响

### (一) Bcl-2 蛋白

Western blot 实验结果显示: NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组中 Bcl-2 蛋

白的相对表达量分别为  $1.07\pm 0.03$ 、 $0.36\pm 0.03$ 、 $0.15\pm 0.02$ , 3 组比较, 差异有统计学意义( $F=1\ 242.93, P<0.001$ )。NOZ 细胞对照组分别与奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组比较, 差异均有统计学意义( $P<0.001, <0.001$ ); 奥利司他低浓度组与奥利司他高浓度组比较, 差异有统计学意义( $P<0.001$ )。

### (二) Bax 蛋白

Western blot 实验结果显示: NOZ 细胞对照组、奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组中 Bax 蛋白的相对表达量分别为  $0.51\pm 0.03$ 、 $0.38\pm 0.05$ 、 $1.38\pm 0.04$ , 3 组比较, 差异有统计学意义( $F=583.51, P<0.001$ )。NOZ 细胞对照组分别与奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组比较, 差异均有统计学意义( $P<0.001, <0.001$ ); 奥利司他低浓度组与奥利司他高浓度组比较, 差异有统计学意义( $P=0.005$ )。

## 讨 论

脂质代谢过程的异常与多种肿瘤的发生、发展密切相关。目前研究结果显示: 靶向脂质代谢治疗方案显示出良好的抗癌效果<sup>[17-24]</sup>。胆囊癌相关的临床和流行病学研究结果显示: 肥胖症和超重与胆囊癌的高风险呈正相关<sup>[25-26]</sup>。胆汁多组学实验结果显示: 脂质代谢异常可能是胆囊癌早期诊断的标志<sup>[27]</sup>。上述研究结果提示异常脂质代谢可能参与胆囊癌的肿瘤发生和恶性进展。已有的研究结果显示:  $\alpha$ -倒捻子素可以通过靶向腺苷酸活化蛋白激酶[adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK]和(或)固醇调节元件结合蛋白 1 (sterol regulatory element binding protein, SREBP1) 抑制脂质合成, 增强胆囊癌对吉西他滨的敏感性<sup>[28]</sup>。这为靶向脂质代谢成为胆囊癌有效治疗靶点提供了可能性。

奥利司他作为脂肪酸合成关键酶 FASN 的抑制剂, 已被证明可抑制多种肿瘤细胞的增殖并诱导凋亡, 例如前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、头颈癌、胃癌、黑色素瘤和肾癌等<sup>[29-38]</sup>。在前列腺癌、黑色素瘤、口腔癌等体内模型中, 奥利司他也可抑制肿瘤生长<sup>[39-40]</sup>。鉴于在其他肿瘤中奥利司他的抗癌效果, 并且也证实其在动物体内应用的安全性, 本研究选择 FASN 表达较高的人胆囊癌 NOZ 细胞, 探讨奥利司他对人胆囊癌细胞活性的影响。

本研究结果显示: 3 组胆囊癌 NOZ 细胞的吸光度、细胞克隆形成数目比较, 差异均有统计学意义。

3 组间两两比较,差异均有统计学意义。这说明奥利司他可以呈浓度依赖性抑制人胆囊癌 NOZ 细胞的生长。

CDK-4 蛋白和 Cyclin-D1 蛋白为周期相关蛋白,在细胞增殖周期中起到重要调节作用。本研究结果显示:3 组中 Cyclin-D1 蛋白和 CDK-4 蛋白的相对表达量比较,差异均有统计学意义;NOZ 细胞对照组分别与奥利司他低浓度组、奥利司他高浓度组比较,差异均有统计学意义。这说明奥利司他能够通过抑制 Cyclin-D1 蛋白和 CDK-4 蛋白的表达,从而抑制人胆囊癌 NOZ 细胞的增殖周期。奥利司他低浓度组 Cyclin-D1 蛋白与奥利司他高浓度组比较,差异有统计学意义;奥利司他低浓度组 CDK-4 蛋白与奥利司他高浓度组比较,差异无统计学意义。这说明高浓度的奥利司他主要通过抑制 Cyclin-D1 蛋白表达从而抑制细胞周期。

Bcl-2 蛋白和 Bax 蛋白均为细胞凋亡相关蛋白,Bcl-2 蛋白对细胞凋亡起抑制作用,而 Bax 蛋白能够促进细胞凋亡,细胞内 Bcl-2 与 Bax 比例的降低能够促进细胞凋亡<sup>[41]</sup>。本研究结果显示:3 组胆囊癌 NOZ 细胞中 Bcl-2 蛋白和 Bax 蛋白的相对表达量比较,差异均有统计学意义。3 组间两两比较,差异均有统计学意义。这说明奥利司他呈浓度依赖性抑制 Bcl-2 蛋白的表达,高浓度的奥利司他可以显著促进 Bax 蛋白的表达,且 Bcl-2 与 Bax 的比例呈浓度依赖性降低。这提示奥利司他可以呈浓度依赖性促进人胆囊癌 NOZ 细胞凋亡。

本研究有以下不足:(1)未深入探究奥利司他作用于胆囊癌细胞的内在机制。(2)未在动物模型中验证奥利司他的抗肿瘤效果。(3)奥利司他影响细胞凋亡的实验仅在蛋白水平验证。笔者团队后期将在细胞水平中进一步选用流式凋亡实验,建立动物模型验证本研究结论。

综上,奥利司他可以抑制人胆囊癌 NOZ 细胞的生长,促进其凋亡。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**作者贡献声明** 马飞、程海鸿:实验设计与实施,数据收集与统计分析,论文撰写;孙玉鑫、周迪、张晓宇:数据收集及统计分析;马飞、丁俊、王寿华、周迪、王健东、施伟斌、于小鹏:研究指导,论文修改,经费支持

## 参 考 文 献

- [1] Lazcano-Ponce EC, Miquel JF, Muñoz N, et al. Epidemiology and molecular pathology of gallbladder cancer[J]. CA Cancer J Clin,2001,51(6):349-364. DOI:10.3322/canjclin. 51.6.349.

- [2] Sharma A, Sharma KL, Gupta A, et al. Gallbladder cancer epidemiology, pathogenesis and molecular genetics: recent update[J]. World J Gastroenterol,2017,23(22):3978-3998. DOI:10.3748/wjg.v23.i22.3978.
- [3] Roa JC, García P, Kapoor VK, et al. Gallbladder cancer[J]. Nat Rev Dis Primers,2022,8(1):69. DOI:10.1038/s41572-022-00398-y.
- [4] Feo CF, Ginesu GC, Fancellu A, et al. Current management of incidental gallbladder cancer: a review[J]. Int J Surg, 2022,98:106234. DOI:10.1016/j.ijssu.2022.106234.
- [5] Gallbladder cancer[J]. Nat Rev Dis Primers,2022,8(1):70. DOI:10.1038/s41572-022-00403-4.
- [6] Ouyang G, Liu Q, Wu Y, et al. The global, regional, and national burden of gallbladder and biliary tract cancer and its attributable risk factors in 195 countries and territories, 1990 to 2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. Cancer,2021,127(13): 2238-2250. DOI:10.1002/cnccr.33476.
- [7] Nakamura H, Arai Y, Totoki Y, et al. Genomic spectra of biliary tract cancer[J]. Nat Genet,2015,47(9):1003-1010. DOI: 10.1038/ng.3375.
- [8] Moeini A, Haber PK, Sia D. Cell of origin in biliary tract cancers and clinical implications[J]. JHEP Rep,2021,3(2): 100226. DOI:10.1016/j.jhepr.2021.100226.
- [9] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin,2021, 71(3):209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
- [10] Rakić M, Patrlj L, Kopljarić M, et al. Gallbladder cancer[J]. Hepatobiliary Surg Nutr,2014,3(5):221-226. DOI:10.3978/j.issn.2304-3881.2014.09.03.
- [11] Park K, Kim KP, Park S, et al. Comparison of gemcitabine plus cisplatin versus capecitabine plus cisplatin as first-line chemotherapy for advanced biliary tract cancer[J]. Asia Pac J Clin Oncol,2017,13(1):13-20. DOI:10.1111/ajco. 12592.
- [12] Okusaka T, Nakachi K, Fukutomi A, et al. Gemcitabine alone or in combination with cisplatin in patients with biliary tract cancer: a comparative multicentre study in Japan[J]. Br J Cancer,2010,103(4):469-474. DOI: 10.1038/sj.bjc.66 0 5779.
- [13] Valle J, Wasan H, Palmer DH, et al. Cisplatin plus gemcitabine versus gemcitabine for biliary tract cancer[J]. N Engl J Med,2010,362(14):1273-1281. DOI: 10.1056/NEJ Moa0908721.
- [14] Phelip JM, Desrame J, Edeline J, et al. Modified FOLFIRINOX versus CISGEM chemotherapy for patients with advanced biliary tract cancer (PRODIGE 38 AMEBICA): a randomized phase II study[J]. J Clin Oncol,2022,40(3):262-271. DOI:10.1200/JCO.21.00679.
- [15] Jovankić JV, Nikodijević DD, Milutinović MG, et al. Potential of Orlistat to induce apoptotic and antiangiogenic effects as well as inhibition of fatty acid synthesis in breast cancer cells[J]. Eur J Pharmacol,2023,939:175456. DOI:10.1016/j.ejphar.2022.175456.
- [16] Pallasch CP, Schwamb J, Königs S, et al. Targeting lipid metabolism by the lipoprotein lipase inhibitor orlistat results in apoptosis of B-cell chronic lymphocytic leukemia cells[J]. Leukemia,2008,22(3):585-592. DOI:10.1038/sj. leu.2405058.
- [17] Snaebjornsson MT, Janaki-Raman S, Schulze A. Greasing the wheels of the cancer machine: the role of lipid metabolism in cancer[J]. Cell Metab,2020,31(1):62-76. DOI:10.1016/j.cmet.2019.11.010.

- [18] Stoykova GE, Schlaepfer IR. Lipid metabolism and endocrine resistance in prostate cancer, and new opportunities for therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(11): 2626. DOI: 10.3390/ijms20112626.
- [19] Cheng C, Geng F, Cheng X, et al. Lipid metabolism reprogramming and its potential targets in cancer[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2018, 38(1): 27. DOI: 10.1186/s40880-018-0301-4.
- [20] Cao Y. Adipocyte and lipid metabolism in cancer drug resistance[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(8): 3006-3017. DOI: 10.1172/JCI127201.
- [21] Bian X, Liu R, Meng Y, et al. Lipid metabolism and cancer[J]. *J Exp Med*, 2021, 218(1): e20201606. DOI: 10.1084/jem.20201606.
- [22] Yoon H, Lee S. Fatty acid metabolism in ovarian cancer: therapeutic implications[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4): 2170. DOI: 10.3390/ijms23042170.
- [23] Martin-Perez M, Urdiroz-Urricelqui U, Bigas C, et al. The role of lipids in cancer progression and metastasis[J]. *Cell Metab*, 2022, 34(11): 1675-1699. DOI: 10.1016/j.cmet.2022.09.023.
- [24] Kerekes DM, Khan SA. Lipid metabolism in biliary tract cancer: a new therapeutic target?[J]. *Ann Surg Oncol*, 2022, 29(5): 2750-2751. DOI: 10.1245/s10434-022-11383-w.
- [25] Wang F, Wang B, Qiao L. Association between obesity and gallbladder cancer[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2012, 17(7): 2550-2558. DOI: 10.2741/4070.
- [26] Pati S, Irfan W, Jameel A, et al. Obesity and cancer: a current overview of epidemiology, pathogenesis, outcomes, and management[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(2): 485. DOI: 10.3390/cancers15020485.
- [27] Sharma N, Yadav M, Tripathi G, et al. Bile multi-omics analysis classifies lipid species and microbial peptides predictive of carcinoma of gallbladder[J]. *Hepatology*, 2022, 76(4): 920-935. DOI: 10.1002/hep.32496.
- [28] Shi Y, Fan Y, Hu Y, et al.  $\alpha$ -Mangostin suppresses the de novo lipogenesis and enhances the chemotherapeutic response to gemcitabine in gallbladder carcinoma cells via targeting the AMPK/SREBP1 cascades[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1): 760-771. DOI: 10.1111/jcmm.14785.
- [29] Scholnik-Cabrera A, Chávez-Blanco A, Domínguez-Gómez G, et al. Orlistat as a FASN inhibitor and multitargeted agent for cancer therapy[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2018, 27(5): 475-489. DOI: 10.1080/13543784.2018.1471132.
- [30] Paulmurugan R, Bhethanabotla R, Mishra K, et al. Folate receptor-targeted polymeric micellar nanocarriers for delivery of orlistat as a repurposed drug against triple-negative breast cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(2): 221-231. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0579.
- [31] Mims J, Bansal N, Bharadwaj MS, et al. Energy metabolism in a matched model of radiation resistance for head and neck squamous cell cancer[J]. *Radiat Res*, 2015, 183(3): 291-304. DOI: 10.1667/RR13828.1.
- [32] Menendez JA, Vellon L, Lupu R. The antiobesity drug Orlistat induces cytotoxic effects, suppresses Her-2/neu (erbB-2) oncogene overexpression, and synergistically interacts with trastuzumab (Herceptin) in chemoresistant ovarian cancer cells[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2006, 16(1): 219-221. DOI: 10.1111/j.1525-1438.2006.00297.x.
- [33] Knowles LM, Yang C, Osterman A, et al. Inhibition of fatty acid synthase induces caspase-8-mediated tumor cell apoptosis by up-regulating DDIT4[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(46): 31378-31384. DOI: 10.1074/jbc.M803384200.
- [34] Fujiwara J, Sowa Y, Horinaka M, et al. The anti-obesity drug orlistat promotes sensitivity to TRAIL by two different pathways in hormone-refractory prostate cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(2): 854. DOI: 10.3892/ijo.2015.3265.
- [35] Menendez JA, Lupu R. RNA interference-mediated silencing of the p53 tumor-suppressor protein drastically increases apoptosis after inhibition of endogenous fatty acid metabolism in breast cancer cells[J]. *Int J Mol Med*, 2005, 15(1): 33-40.
- [36] Knowles LM, Axelrod F, Browne CD, et al. A fatty acid synthase blockade induces tumor cell-cycle arrest by down-regulating Skp2[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(29): 30540-30545. DOI: 10.1074/jbc.M405061200.
- [37] Agostini M, Almeida LY, Bastos DC, et al. The fatty acid synthase inhibitor orlistat reduces the growth and metastasis of orthotopic tongue oral squamous cell carcinomas[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(3): 585-595. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-1136.
- [38] Cervantes-Madrid D, Dueñas-González A. Antitumor effects of a drug combination targeting glycolysis, glutaminolysis and de novo synthesis of fatty acids[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(3): 1533-1542. DOI: 10.3892/or.2015.4077.
- [39] Carvalho MA, Zecchin KG, Seguin F, et al. Fatty acid synthase inhibition with Orlistat promotes apoptosis and reduces cell growth and lymph node metastasis in a mouse melanoma model[J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(11): 2557-2565. DOI: 10.1002/ijc.23835.
- [40] Kridel SJ, Axelrod F, Rozenkrantz N, et al. Orlistat is a novel inhibitor of fatty acid synthase with antitumor activity[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(6): 2070-2075. DOI: 10.1158/0008-5472.can-03-3645.
- [41] Choi E, Kim E, Kim JH, et al. AKT1-targeted proapoptotic activity of compound K in human breast cancer cells[J]. *J Ginseng Res*, 2019, 43(4): 692-698. DOI: 10.1016/j.jgr.2019.07.001.

## 广告目次

强生(上海)医疗器材有限公司……………封二  
 奥林巴斯(北京)销售服务有限公司……………对封二  
 深圳翰宇药业股份有限公司……………对导读  
 柯惠医疗器材国际贸易(上海)有限公司……………对中文目次 1  
 宁波市金迈得医疗科技有限公司……………对中文目次 2  
 柯惠医疗器材国际贸易(上海)有限公司……………对英文目次 1

雅培贸易(上海)有限公司……………对英文目次 2  
 以诺康医疗科技(苏州)有限公司……………对正文  
 雅培贸易(上海)有限公司……………对封三  
 费森尤斯卡比华瑞制药有限公司……………封三  
 强生(上海)医疗器材有限公司……………封四