



Raddeanin A Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis of Endometrial Cancer Cell by Suppressing the AKT/mTOR Signaling Pathway

Lili ZHANG^{1,2}, Yifang ZHANG³, Hong YAN⁴, Qiu CHUNPING¹, Xiaomei SUN¹ & Jie JIANG^{1*}

¹ Department of Obstetrics and Gynecology, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan, Shandong, China

² Department of Ultrasonography, Jinan Central Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan, Shandong, China

³ Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital of Taishan Medical University, Tai'an, Shandong, China

⁴ Department of Obstetrics and Gynecology, Women and Children's Hospital, Decheng Dezhou, Shandong, China

SUMMARY. Endometrial cancer (EC) is the most common gynaecologic malignancy, and its incidence rate has been persistently rising. To date, the underlying mechanisms of EC have not been clarified. Raddeanin A (RA), an active pharmacological ingredient from *Anemone raddeana* Regel, has been shown to play an important role in tumour suppression. We aimed to assess the potential therapeutic effect of RA on EC and clarify its underlying mechanisms. Cell viability was validated by 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide. Apoptosis was determined by flow cytometry and Hoechst staining. Similarly, cell cycle was validated by flow cytometry. The related mRNA and protein level were examined by quantitative real-time polymerase chain reaction and Western blot assay, respectively. RA inhibited growth and induced apoptosis in a dose-dependent manner. Additionally, RA inhibited Ishikawa cell growth by inducing cell cycle arrest. In RA-treated Ishikawa cells, Bax's mRNA and protein levels significantly increased. On the contrary, Bcl-2 levels decreased in a dose-dependent manner. Similarly, PI3K and AKT1's mRNA levels also decreased in a dose-dependent manner. Furthermore, RA significantly activated caspase-3, caspase-8 and caspase-9. p-AKT's protein levels, p-S6K1 was downregulated by RA in a dose-dependent manner. These findings demonstrate that RA suppresses EC's growth through the AKT/mTOR pathway and suggest that RA represents a promising and potential therapeutic strategy for EC.

RESUMEN. El cáncer de endometrio (CE) es la neoplasia maligna ginecológica más común y su tasa de incidencia ha aumentado de manera persistente. Hasta la fecha, los mecanismos subyacentes de la CE no se han aclarado. Se ha demostrado que raddeanina A (RA), un ingrediente farmacológico activo de *Anemone raddeana* Regel, juega un papel importante en la supresión tumoral. Nuestro objetivo fue evaluar el posible efecto terapéutico de la AR en la CE y aclarar sus mecanismos subyacentes. La viabilidad celular se validó mediante bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio. La apoptosis se determinó por citometría de flujo y tinción de Hoechst. Del mismo modo, el ciclo celular fue validado por citometría de flujo. El ARNm y el nivel de proteína relacionados se examinaron mediante reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real y ensayo de transferencia Western, respectivamente. RA inhibió el crecimiento y la apoptosis inducida de una manera dependiente de la dosis. Además, la AR inhibió el crecimiento de células de Ishikawa al inducir la detención del ciclo celular. En las células Ishikawa tratadas con AR, los niveles de ARNm y proteínas de Bax aumentaron significativamente. Por el contrario, los niveles de Bcl-2 disminuyeron de una manera dependiente de la dosis. Del mismo modo, los niveles de ARNm de PI3K y AKT1 también disminuyeron de forma dependiente de la dosis. Además, RA activó significativamente caspasa-3, caspasa-8 y caspasa-9. Los niveles de proteína de p-AKT, p-S6K1 fueron regulados negativamente por RA de una manera dependiente de la dosis. Estos hallazgos demuestran que la AR suprime el crecimiento de la CE a través de la vía AKT/mTOR y sugiere que la AR representa una estrategia terapéutica prometedora y potencial para la CE.

KEY WORDS: AKT/Mtor, apoptosis, endometrial cancer, raddeanin A.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: jiangjie0204@163.com