

Sophoricoside Induces the Apoptosis of T24 and 5637 Bladder Cancer Cells by Regulating Bcl-2 and Bax Expression and Inhibiting the PI3K/Akt Signaling Pathway

Jinhua WU¹ #, Dapeng ZONG² #, Fei LI³ *, Souravh BAIS⁴ & Renu KUMARI⁴

¹ Department of Andrology, Ganzhou People's Hospital, Ganzhou, Jiangxi, 341000, China.

² Department of Urology, Huaian Hospital of Huaian City, Huaian, Jiangsum, 223200, China.

³ Department of Urology, Central Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan, Shandong, 250000, China.

⁴ Institute of Pharmaceutical Sciences. Sage University, Indore, India.

SUMMARY. Sophoricoside (SPC) exhibits numerous pharmacological effects, including anti-inflammatory and anti-cancer actions. Nonetheless, its efficacy in treating bladder cancer (BC) is unclear thus far. Through *in vitro* and *in vivo* experiments, this study aimed to explore whether SPC has an antitumor effect on T24 and 5637 BC cells and whether the effect is related to B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2-associated X protein (Bax) and the regulation of the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/ protein kinase B (Akt) pathway. *In vitro* experiments: the Cell Counting Kit-8 (CCK-8) method was used to determine how different concentrations of SPC affect the viability of two types of BC cells. A wound healing assay was used to test the inhibitory effect of SPC on the migration of the two cells. Annexin V-FITC/PI staining was used to detect the change in cell apoptosis before and after SPC treatment, and Western blotting was used to detect the expression of apoptosis-related proteins and PI3K/Akt pathway proteins. *In vivo* experiments: A cell-derived xenograft (CDX) model was employed, and the weight of nude mice and the tumor size were measured. Immunohistochemistry was used to detect the effect of SPC on the expression of apoptosis-related proteins in tumor xenografts. The results showed that *in vitro*, SPC reduced the proliferation, inhibited the migration, induced the apoptosis of T24 and 5637 BC cells; increased the expression of proapoptotic proteins, including Bax, caspase-3 and cleaved caspase-3; and suppressed the expression of antiapoptotic proteins, including Bcl-2, PI3K, Akt and Akt Phosphorylation (p-Akt) in a dose-dependent manner. It was further confirmed by an *in vivo* experiment that SPC can reduce the size of metastatic tumors in nude mice and increase the expression levels of Bax and cleaved caspase-3 and lower the expression of Bcl-2 in bladder tumor tissue. The results obtained from both experiments suggest that SPC can inhibit the proliferation of T24 and 5637 BC cells, which might be credited to its effects in regulating Bcl-2 and Bax expression and inhibiting the PI3K/Akt pathway.

RESUMEN. El sofóricoído (SPC) exhibe numerosos efectos farmacológicos, incluidas acciones antiinflamatorias y anticancerígenas. No obstante, hasta el momento no está clara su eficacia en el tratamiento del cáncer de vejiga (BC). A través de experimentos *in vitro* e *in vivo*, este estudio tuvo como objetivo explorar si SPC tiene un efecto antitumoral en las células T24 y 5637 BC y si el efecto está relacionado con el linfoma de células B-2 (Bcl-2), X asociado a Bcl-2. proteína (Bax) y la regulación de la vía fosfoinositida 3-quinasa (PI3K)/proteína quinasa B (Akt). Experimentos *in vitro*: se utilizó el método Cell Counting Kit-8 (CCK-8) para determinar cómo diferentes concentraciones de SPC afectan la viabilidad de dos tipos de células BC. Se utilizó un ensayo de cicatrización de heridas para probar el efecto inhibidor del SPC sobre la migración de las dos células. La tinción con anexina V-FITC/PI se utilizó para detectar el cambio en la apoptosis celular antes y después del tratamiento con SPC, y la transferencia Western se utilizó para detectar la expresión de proteínas relacionadas con la apoptosis y proteínas de la vía PI3K/Akt. Experimentos *in vivo*: se empleó un modelo de xenoinjerto derivado de células (CDX) y se midieron el peso de ratones desnudos y el tamaño del tumor. Se utilizó inmunohistoquímica para detectar el efecto de SPC en la expresión de proteínas relacionadas con la apoptosis en xenoinjertos tumorales. Los resultados mostraron que *in vitro*, SPC redujo la proliferación, inhibió la migración, indujo la apoptosis de las células T24 y 5637 BC; aumentó la expresión de proteínas proapoptóticas, incluidas Bax, caspasa-3 y caspasa-3 escindida; y suprimió la expresión de proteínas antiapoptóticas, incluidas Bcl-2, PI3K, Akt y Akt Phosphorylation (p-Akt) de una manera dependiente de la dosis. Un

KEY WORDS: apoptosis, bladder cancer, 5637 cells, PI3K/Akt pathway, sophoricoside, T24 cells.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: lifeifei1212@sina.com

Jinhua Wu and Dapeng Zong are co-first authors, they contributed equally to this work

experimento *in vivo* confirmó además que SPC puede reducir el tamaño de los tumores metastásicos en ratones desnudos y aumentar los niveles de expresión de Bax y caspasa-3 escindida y reducir la expresión de Bcl-2 en el tejido tumoral de vejiga. Los resultados obtenidos de ambos experimentos sugieren que SPC puede inhibir la proliferación de células T24 y 5637 BC, lo que podría atribuirse a sus efectos en la regulación de la expresión de Bcl-2 y Bax y la inhibición de la vía PI3K/Akt.
