

重楼皂苷通过p53/SLC7A11信号轴促进三阴性乳腺癌细胞铁死亡的机制研究

李昕¹, 栗东海^{1*}, 高小明², 山院飞³, 薛江⁴

¹内蒙古医科大学附属第一医院甲状腺乳腺外科, 内蒙古呼和浩特 010050; ²内蒙古医科大学附属第一医院中医科, 内蒙古呼和浩特 010050; ³天津市第一中心医院普通外科, 天津 300110; ⁴内蒙古自治区巴彦淖尔市医院甲状腺乳腺外科, 内蒙古巴彦淖尔 015000

[中图分类号] R737.9 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2023.01.0058

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 李昕, 栗东海, 高小明, 等. 重楼皂苷通过p53/SLC7A11信号轴促进三阴性乳腺癌细胞铁死亡的研究[J]. 解放军医学杂志, 2023, 48(1): 58-63.

[收稿日期] 2021-10-28 [录用日期] 2022-03-03 [上线日期] 2022-07-20

[摘要] **目的** 探讨重楼皂苷对三阴性乳腺癌细胞铁死亡的影响及其机制。**方法** 用0、10、20、30、40、50 μmol/L重楼皂苷处理三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞, 采用CCK-8法检测细胞活性。取对数生长期MDA-MB-231细胞, 随机分为对照组、重楼皂苷组(30 μmol/L重楼皂苷处理12 h)、抑制剂组(2 μmol/L Ferrostatin-1处理12 h)与重楼皂苷+抑制剂组(2 μmol/L Ferrostatin-1处理12 h后, 30 μmol/L重楼皂苷处理12 h), 采用CCK-8法检测细胞活性, 流式细胞仪检测细胞凋亡率, qRT-PCR和Western blotting检测二价金属离子转运体1(DMT1)、转铁蛋白受体1(TFR1)、谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)、p53、p53/溶质运载蛋白7家族成员11(SLC7A11)的表达情况。**结果** CCK-8法检测结果显示, MDA-MB-231细胞存活率随重楼皂苷浓度的升高而降低, 且呈剂量依赖性($P<0.05$)。与对照组比较, 重楼皂苷组细胞存活率以及CPX4、SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量降低, 细胞凋亡率以及TFR1、DMT1、p53 mRNA和蛋白相对表达量升高, 抑制剂组CPX4、SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量升高, 细胞凋亡率以及TFR1、DMT1、p53 mRNA和蛋白相对表达量降低($P<0.05$); 与重楼皂苷组比较, 重楼皂苷+抑制剂组细胞存活率以及CPX4、SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量升高, 细胞凋亡率以及TFR1、DMT1、p53 mRNA和蛋白相对表达量降低($P<0.05$); 与抑制剂组比较, 重楼皂苷+抑制剂组细胞存活率以及CPX4、SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量降低, 细胞凋亡率以及TFR1、DMT1、p53 mRNA和蛋白相对表达量升高($P<0.05$)。**结论** 重楼皂苷可抑制三阴性乳腺癌细胞增殖, 促进乳腺癌细胞铁死亡, 其机制可能与p53/SLC7A11信号轴的调控作用有关。

[关键词] 三阴性乳腺癌; 重楼皂苷; 铁死亡; p53/SLC7A11信号轴

Studies on Paris saponin promoting iron death in triple negative breast cancer cells through p53/SLC7A11 signal axis

Li Xin¹, Li Dong-Hai^{1*}, Gao Xiao-Ming², Shan Yuan-Fei³, Xue Jiang⁴

¹Department of Thyroid and Breast Surgery, ²Department of Traditional Chinese Medicine, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China

³Department of General Surgery, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300110, China

⁴Department of Thyroid and Breast Surgery, Bayannur City Hospital, Bayannur, Inner Mongolia 015000, China

*Corresponding author, E-mail: 17057799483@163.com

This work was supported by the Beijing Medical Award Foundation (YXJL-2020-1116-0412)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect and mechanism of Paris saponins on iron death in triple negative breast cancer cells. **Methods** MDA-MB-231 cells were treated with 0, 10, 20, 30, 40 and 50 μmol/L of Paris saponins. Cell viability was

[基金项目] 北京医学奖励基金会项目(YXJL-2020-1116-0412)

[作者简介] 李昕, 硕士研究生, 副主任医师, 主要从事甲状腺及乳腺疾病方面的研究

[通信作者] 栗东海, E-mail: 17057799483@163.com

detected by CCK-8 method. MDA-MB-231 cells at logarithmic growth stage were randomly divided into control group, Paris saponin group (treated with 30 $\mu\text{mol/L}$ Paris saponin for 12 h), inhibitor group (treated with 2 $\mu\text{mol/L}$ Ferrostatin for 12 h) and Paris saponin + inhibitor group (treated with 30 $\mu\text{mol/L}$ Paris saponin for 12 h after treatment with 2 $\mu\text{mol/L}$ Ferrostatin-1 for 12 h), cell viability was detected by CCK-8 method, cell apoptosis rate was detected by flow cytometry. The expressions of divalent metal ion transporter 1 (DMT1), transferrin receptor 1 (TFR1), glutathione peroxidase 4 (GPX4), p53 and p53/SLC7A11 were detected by qRT-PCR and Western blotting. **Results** CCK-8 assay showed that the survival rate of MDA-MB-231 cells was decreased with the increase of the concentration of Paris saponin in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). Compared with control group, the cell survival rate, the relative expression levels of *CPX4*, *SLC7A11* mRNA and protein decreased, while of apoptosis rate, the relative, expression levels of *TFR1*, *DMT1*, *p53* mRNA and protein increased in Paris saponin group, the relative expression levels of *CPX4*, *SLC7A11* mRNA and protein increased in inhibitor group, the apoptosis rate and the relative expressions of *TFR1*, *DMT1* and *p53* mRNA and protein were decreased ($P < 0.05$). Compared with inhibitor group, the cell survival rate and the mRNA and protein relative expressions of *CPX4* and *SLC7A11* decreased, while the apoptosis rate and the mRNA and protein relative expressions of *TFR1*, *DMT1* and *p53* increased in parisaponin + inhibitor group ($P < 0.05$). **Conclusion** Paris saponin inhibits the proliferation of triple negative breast cancer cells and promotes iron death in cancer cells, possibly through the regulation of p53/SLC7A11 signal axis.

[Key words] triple negative breast cancer; Paris saponin; iron death; p53/SLC7A11 signal axis

三阴性乳腺癌是指雌激素受体、孕激素受体和人表皮生长因子受体2均无表达的乳腺癌类型，主要特征为侵袭性强、恶性程度高及预后差^[1-2]，患者生存率极低，因此深入研究其发病机制并寻找安全有效的治疗药物至关重要。从传统中药重楼中分离提取的重楼皂苷具有抗炎、抗氧化及镇痛等多种药理学作用^[3]，其在抗肿瘤方面的作用也受到了广泛关注。研究发现，重楼皂苷在肝癌、胰腺癌和胃癌等恶性肿瘤中可发挥抑癌作用^[4-6]。铁死亡是一种具有铁依赖性的程序性细胞死亡方式^[7]，主要由细胞内脂质活性氧过度累积引起，不同于细胞凋亡和坏死^[8]。有研究发现，重楼皂苷可诱导三阴性乳腺癌细胞铁死亡，从而发挥抗乳腺癌的作用，但其具体机制仍有待进一步探讨^[9]。另有研究发现，p53/溶质运载蛋白7家族成员11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)信号轴在铁死亡过程中起着重要作用，二陈汤合桃红四物汤可调节p53/SLC7A11信号轴介导氧化损伤及细胞铁死亡，从而改善动脉粥样硬化^[10]。目前，重楼皂苷调节p53/SLC7A11信号轴介导铁死亡的研究鲜见报道。本研究探讨了重楼皂苷调节p53/SLC7A11信号轴对三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞铁死亡的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器 重楼皂苷购自成都曼斯特生物科技有限公司；铁死亡抑制剂Ferrostatin-1购自美国MedChemExpress公司；CCK-8试剂盒购自北京智杰方远科技有限公司；PCR试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司；二价金属离子转运体1 (divalent metal transporter 1, DMT1)、转铁蛋白受体1(transferrin receptor 1, TFR1)、谷胱甘肽过氧化

物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4) PCR引物购自广州锐博生物科技有限公司；兔抗人SLC7A11、p53、DMT1、TFR1、GPX4抗体购自美国Abcam公司。电泳仪、荧光定量PCR仪购自美国Bio-Rad公司。

1.2 细胞培养 三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞购自上海中科院细胞库，置于含10%胎牛血清的DMEM培养基中，在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养，每2 d传代1次。

1.3 CCK-8法检测不同浓度重楼皂苷对细胞活性的影响 传至第4代后，取对数生长期MDA-MB-231细胞制成单细胞悬液，接种于96孔板(1×10^5 个/孔)，培养24 h后，用含终浓度为0、10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$ 重楼皂苷的培养基培养，另设不加细胞仅有培养基的空白孔，每组设置3个复孔。培养12 h后，每孔加入CCK-8工作液10 μl ，置于培养箱中培养2 h，采用酶标仪检测450 nm波长处的吸光度(A)值，计算细胞存活率。细胞存活率(%)=(实验组 A_{450} -空白孔 A_{450})/(对照组 A_{450} -空白孔 A_{450}) $\times 100\%$ 。选择细胞存活率接近50%的重楼皂苷浓度(30 $\mu\text{mol/L}$)进行后续实验。

1.4 重楼皂苷对MDA-MB-231细胞存活率的影响

取对数生长期MDA-MB-231细胞，制成细胞悬液，接种于96孔板(1×10^5 个/孔)，培养12 h后，分为对照组、重楼皂苷组、抑制剂组与重楼皂苷+抑制剂组，每组设3个复孔。重楼皂苷组细胞用含30 $\mu\text{mol/L}$ 重楼皂苷的培养基培养12 h；抑制剂组用含2 $\mu\text{mol/L}$ 铁死亡抑制剂Ferrostatin-1的培养基培养12 h；重楼皂苷+抑制剂组细胞用含2 $\mu\text{mol/L}$ Ferrostatin-1的培养基培养12 h后，弃去旧培养基，更换为含30 $\mu\text{mol/L}$ 重楼皂苷的培养基继续培养12 h；对照组细胞仅更换新的培养基，不进行药物

处理。按照1.3的方法检测各组细胞存活率。

1.5 流式细胞仪检测细胞凋亡率 取对数生长期MDA-MB-231细胞,制成细胞悬液,接种于6孔板(1×10^5 个/孔),培养12 h后,按照1.4方法分组,每组设3个复孔。不同药物处理12 h后,3000 r/min离心10 min(离心半径8 cm),PBS清洗2次,离心,加入500 μ l 结合缓冲液,混匀后,加入PI和Annexin-FITC各5 μ l,室温避光孵育15 min后,采用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.6 qRT-PCR检测DMT1、TFR1、GPX4、p53、SLC7A11 mRNA相对表达量 取对数生长期MDA-MB-231细胞,制成细胞悬液,接种于6孔板(1×10^5 个/孔),培养12 h后,按照1.4方法分组,每组设3个复孔。不同药物处理12 h后,3000 r/min离心10 min(离心半径8 cm),PBS清洗2次,加入Trizol试剂提取细胞总RNA,反转录成cDNA,以cDNA为模板进行荧光定量PCR。反应体系为20 μ l:SYBR 10 μ l, cDNA 1 μ l,上下游引物各1 μ l,无核酶水7 μ l。反应条件:95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s,共40个循环。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算DMT1、TFR1、GPX4、p53、SLC7A11 mRNA相对表达量。引物序列如表1所示。

表1 qRT-PCR引物序列

Tab.1 Primer sequence for qRT-PCR

基因	引物序列
DMT1	正义链: 5'-CATACTACCTGACAGGTA-3'
	反义链: 5'-CTTCTCCGATGACTCAGG-3'
TFR1	正义链: 5'-CCTTAACAGATTCCGAAA-3'
	反义链: 5'-TACAATGCCTTTCTGAGC-3'
GPX4	正义链: 5'-CGTTTCCTTAGATCATGT-3'
	反义链: 5'-TAGTCTCCTCAAGGCTGA-3'
p53	正义链: 5'-CAGCACATGACGGAGGTTGT-3'
	反义链: 5'-TCATCCAAATACTCCACACGC-3'
SLC7A11	正义链: 5'-TCTCCAAAGGAGGTTACCTGC-3'
	反义链: 5'-AGACTCCCCTCAGTAAAGTGAC-3'
GAPDH	正义链: 5'-GCTTACCGTAGTACGCGA-3'
	反义链: 5'-GCATTCCGAACACTCACT-3'

DMT1.二价金属离子转运体1; TFR1.转铁蛋白受体1; GPX4.谷胱甘肽过氧化物酶4; SLC7A11.溶质运载蛋白7家族成员11

1.7 Western blotting检测p53、SLC7A11、DMT1、TFR1、GPX4蛋白相对表达量 取对数生长期MDA-MB-231细胞,制成细胞悬液,接种于6孔板(1×10^5 个/孔),培养12 h后,按照1.4方法分组,每组设3个复孔。不同药物处理12 h后,3000 r/min离心10 min(离心半径8 cm),PBS清洗2次,加入

RIPA裂解液裂解30 min,4 $^{\circ}$ C下12 000 r/min离心10 min(离心半径10 cm);取上清,采用BCA法测定蛋白浓度,取20 μ l上样行SDS-PAGE凝胶电泳,120 V电泳1.5 h,电泳结束后0.3 A湿转2 h, TBST洗膜,室温封闭1 h;加入p53、SLC7A11、DMT1、TFR1、GPX4和GAPDH一抗(1:1000)4 $^{\circ}$ C孵育过夜,加入二抗(1:5000)室温孵育1 h;TBST洗膜,ECL法显色,采用Image J软件进行分析,以目的蛋白条带灰度值/GAPDH条带灰度值代表目的蛋白的相对表达量。

1.8 统计学处理 采用SPSS 22.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度重楼皂苷对乳腺癌MDA-MB-231细胞活性的影响 CCK-8法检测结果显示,乳腺癌MDA-MB-231细胞存活率随重楼皂苷浓度的增加而降低,且呈剂量依赖性($P < 0.05$,图1),选择细胞存活率接近50%的重楼皂苷浓度(30 μ mol/L)进行后续实验。

2.2 重楼皂苷对乳腺癌MDA-MB-231细胞存活率和凋亡率的影响 CCK-8法和流式细胞仪检测结果显示,与对照组比较,重楼皂苷组细胞存活率降低、凋亡率升高($P < 0.05$),抑制剂组细胞凋亡率降低($P < 0.05$);与重楼皂苷组比较,重楼皂苷+抑制剂组细胞存活率升高、凋亡率降低($P < 0.05$);与抑制剂组比较,重楼皂苷+抑制剂组细胞存活率降低、凋亡率升高($P < 0.05$);抑制剂组与对照组细胞存活率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(图2、表2)。

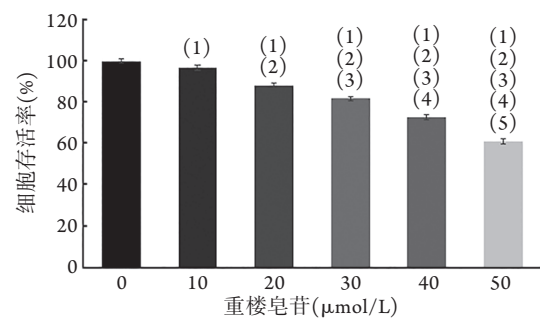


图1 不同浓度重楼皂苷对乳腺癌MDA-MB-231细胞活性的影响($n=3$)

Fig.1 Effects of different concentrations of parissaponin on breast cancer MDA-MB-231 cell viability ($n=3$)

与0 μ mol/L重楼皂苷比较, (1) $P < 0.05$; 与10 μ mol/L重楼皂苷比较, (2) $P < 0.05$; 与20 μ mol/L重楼皂苷比较, (3) $P < 0.05$; 与30 μ mol/L重楼皂苷比较, (4) $P < 0.05$; 与40 μ mol/L重楼皂苷比较, (5) $P < 0.05$

表2 各组乳腺癌MDA-MB-231细胞存活率和凋亡率比较 (% , $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab.2 Comparison of survival rate and apoptosis rate of breast cancer MDA-MB-231 cells in each group (% , $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	细胞存活率	细胞凋亡率
对照组	99.60 ± 4.62	3.34 ± 1.05
重楼皂苷组	75.40 ± 3.94 ⁽¹⁾	18.64 ± 1.33 ⁽¹⁾
抑制剂组	99.27 ± 4.16	2.23 ± 0.08 ⁽¹⁾
重楼皂苷+抑制剂组	85.06 ± 5.25 ⁽²⁾⁽³⁾	13.50 ± 1.42 ⁽²⁾⁽³⁾
F	20.336	155.545
P	<0.001	<0.001

与对照组比较, (1) $P<0.05$; 与重楼皂苷组比较, (2) $P<0.05$; 与抑制剂组比较, (3) $P<0.05$

2.3 重楼皂苷对各组乳腺癌MDA-MB-231细胞 DMT1、TFR1、GPX4、p53、SLC7A11 mRNA和蛋白表达的影响 qRT-PCR和Western blotting检测

结果显示, 与对照组比较, 重楼皂苷组DMT1、TFR1、p53 mRNA和蛋白相对表达量升高, GPX4、SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量降低, 抑制剂组DMT1、TFR1和p53 mRNA和蛋白相对表达量降低, GPX4、SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量升高($P<0.05$); 与重楼皂苷组比较, 重楼皂苷+抑制剂组DMT1、TFR1、p53 mRNA和蛋白相对表达量降低, GPX4、SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量升高($P<0.05$); 与抑制剂组比较, 重楼皂苷+抑制剂组DMT1、TFR1、p53 mRNA和蛋白相对表达量升高, GPX4、SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量降低($P<0.05$)(图3)。

3 讨论

三阴性乳腺癌是乳腺癌的一种亚型, 由于缺乏特异性治疗靶点, 其治疗效果及预后均不理想。此

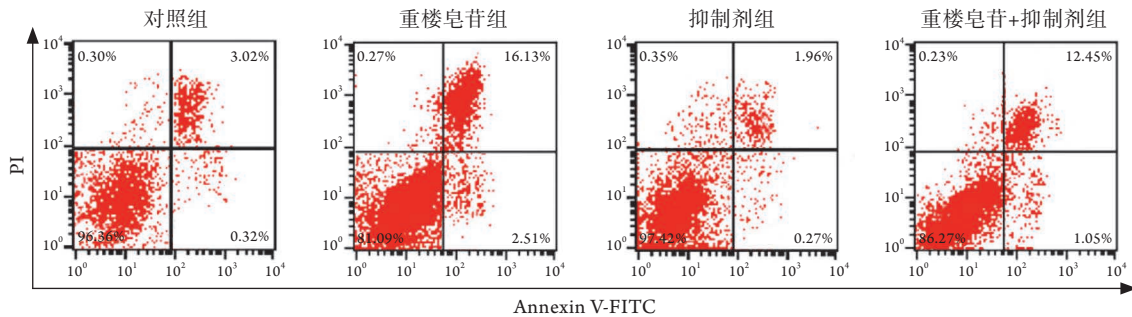


图2 流式细胞仪检测各组乳腺癌MDA-MB-231细胞凋亡情况

Fig.2 Cell apoptosis of breast cancer MDA-MB-231 cells in each group detected by flow cytometry

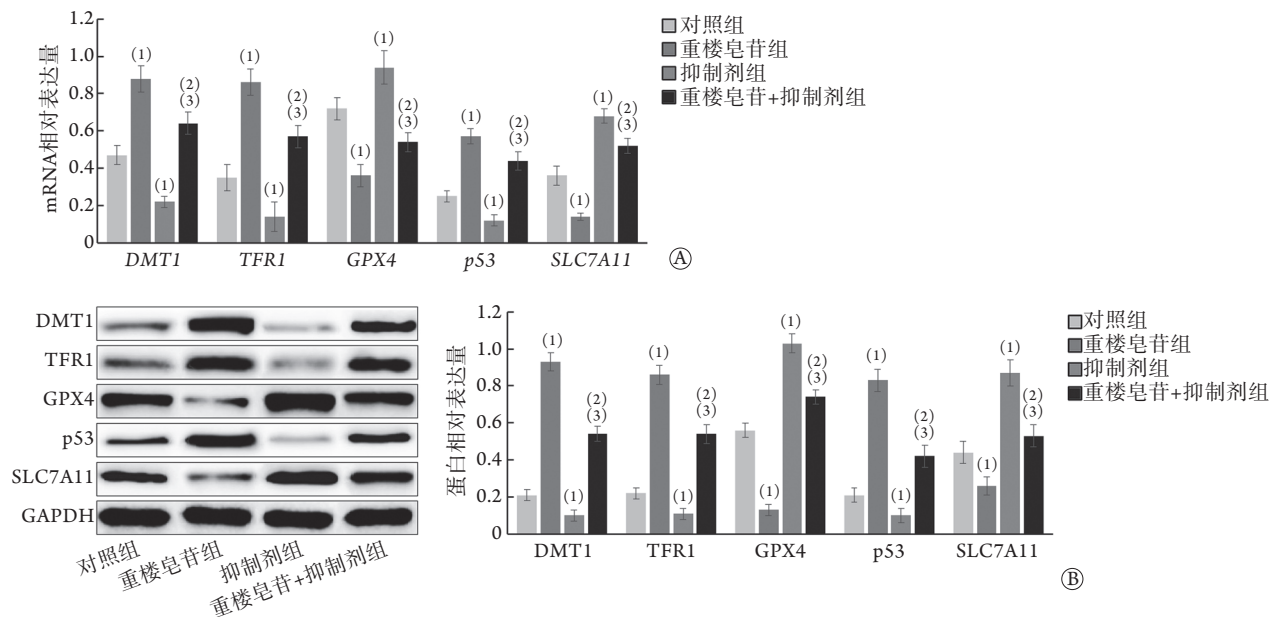


图3 各组乳腺癌MDA-MB-231细胞DMT1、TFR1、GPX4、p53、SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量($n=3$)

Fig.3 The relative expression levels of DMT1, TFR1, GPX4, p53 and SLC7A11 mRNA and protein of breast cancer MDA-MB-231 cells in each group ($n=3$)

DMT1. 二价金属离子转运体1; TFR1. 转铁蛋白受体1; GPX4. 谷胱甘肽过氧化物酶4; SLC7A11. 溶质运载蛋白7家族成员11; 与对照组比较, (1) $P<0.05$; 与重楼皂苷组比较, (2) $P<0.05$; 与抑制剂组比较, (3) $P<0.05$

外,三阴性乳腺癌发病年龄偏年轻,侵袭性高,易转移且复发率高,生存期短^[11]。因此,寻找三阴性乳腺癌的有效治疗靶点刻不容缓。

重楼为百合科重楼属植物的干燥根茎,味苦,性微寒,具有清热解毒、消肿止痛等功效。近年来重楼皂苷在抗肿瘤方面的作用受到了关注。研究发现,重楼皂苷可通过抑制细胞周期关键调控因子,使细胞阻滞在G₀/G₁期,从而诱导前列腺癌细胞凋亡^[12]。Li等^[13]研究发现,重楼皂苷可通过诱导细胞自噬而抑制乳腺癌细胞的增殖和迁移。上述研究结果提示重楼皂苷在多种恶性肿瘤中具有抑制作用。本研究采用不同浓度重楼皂苷处理乳腺癌细胞,结果显示,随着重楼皂苷浓度的升高,细胞存活率降低,表明重楼皂苷具有抑制三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞增殖的作用。

细胞内脂质活性氧是由含Fe²⁺的酶催化生成的,机体通过抗氧化系统清除过多产生的活性氧,从而达到平衡状态,一旦这种平衡被打破,脂质过氧化导致过多活性氧累积则引起铁死亡。铁死亡是癌细胞死亡的重要途径之一。Zhang等^[14]研究发现, circRHOT1通过miR-106a-5p/信号传导及转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription, STAT3)轴减弱铁死亡,从而促进乳腺癌的恶性进展。体内研究发现,铁死亡诱导剂可通过上调盘状结构域受体酪氨酸激酶2(discoidin domain receptor tyrosine kinase 2, DDR2)在复发性乳腺癌中的表达,阻碍恶性肿瘤的进展^[15]。Hou等^[16]研究发现,二甲双胍可通过miR-324/GPX4轴促进乳腺癌细胞铁死亡,从而抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和浸润。本研究探讨了重楼皂苷是否能通过调节三阴性乳腺癌细胞的铁死亡而发挥抗癌作用,结果显示,与重楼皂苷组比较,重楼皂苷+抑制剂组细胞存活率升高、凋亡率降低,与抑制剂组比较,重楼皂苷+抑制剂组细胞存活率降低、凋亡率升高,表明重楼皂苷可拮抗铁死亡抑制剂的作用,

诱导乳腺癌细胞凋亡。铁代谢通路相关因子被认为是调节铁死亡的关键因子。TFR1是一种糖蛋白受体,是位于细胞膜上调节铁离子稳定的重要因子,Fe³⁺通过TFR1进入细胞,能够被氧化亚铁还原酶(six-transmembrane epithelial antigen of the prostate, STEAP3)还原成Fe²⁺,然后通过DMT1介导释放至细胞质中,TFR1是铁死亡的标志性基因^[17-18]。Song等^[19]研究发现,DMT1过表达可促进缺氧/复氧诱导的心肌细胞铁死亡,下调DMT1可明显抑制铁死亡。GPX4可将有毒性的脂质过氧化物转为无毒性的脂醇,其表达降低可导致脂质过氧化生成过多的活性氧,从而引起铁死亡^[20]。本研究结果显示,与抑制剂组比较,重楼皂苷+抑制剂组DMT1和TFR1 mRNA和蛋白相对表达量升高,而GPX4 mRNA和蛋白相对表达量降低,表明重楼皂苷可诱导铁死亡。

胱氨酸/谷氨酸反向转运体(system Xc-)是胞内非常重要的抗氧化分子,由12次跨膜蛋白转运蛋白SLC7A11和单次跨膜调节蛋白SLC3A2组成,是铁死亡过程中重要的上游节点分子,在维持胱氨酸摄取及谷氨酸排出方面发挥关键作用;SLC7A11主要将胱氨酸由细胞外转运至细胞内,胱氨酸在细胞内还原成半胱氨酸,从而参与谷胱甘肽的合成^[21],而谷胱甘肽是一种重要的抗氧化剂,因此SLC7A11可通过介导胱氨酸转运促进谷胱甘肽合成,从而抑制脂质过氧化产物积累,阻碍铁死亡程序的启动^[22]。p53是一种抑癌因子,近年来研究发现其可通过抑制SLC7A11诱导细胞铁死亡^[23]。本研究结果显示,与重楼皂苷组比较,重楼皂苷+抑制剂组p53 mRNA和蛋白相对表达量降低,SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量升高,与抑制剂组比较,重楼皂苷+抑制剂组p53 mRNA和蛋白相对表达量升高,SLC7A11 mRNA和蛋白相对表达量降低,表明重楼皂苷可促进p53的表达,抑制SLC7A11的表达,从而促进细胞铁死亡。具体机制见图4。

综上所述,重楼皂苷可抑制三阴性乳腺癌细胞的增殖,诱导乳腺癌细胞凋亡,其机制可能与促

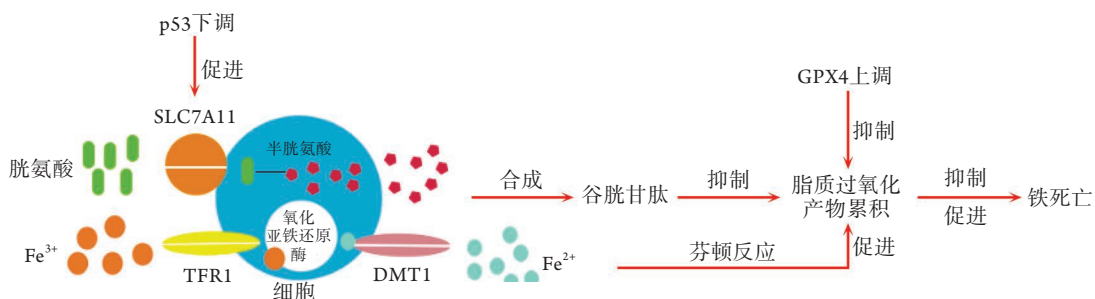


图4 MDA-MB-231细胞中p53/LC7A11信号轴介导的铁死亡过程

Fig.4 Iron death mediated by p53/LC7A11 signaling axis in MDA-MB-231 cells

DMT1. 二价金属离子转运体1; TFR1. 转铁蛋白受体1; GPX4. 谷胱甘肽过氧化物酶4; SLC7A11. 溶质运载蛋白7家族成员11; Fe³⁺. 三价铁离子; Fe²⁺. 二价铁离子

进p53、抑制SLC7A11的表达,从而使细胞发生铁死亡有关,这为临床治疗三阴性乳腺癌提供了理论依据。但本研存在以下不足:细胞凋亡受多种因素的影响,除与铁死亡有关外,重楼皂苷诱导癌细胞凋亡、抑制癌细胞增殖是否与氧化应激反应、细胞周期及细胞自噬等生理学过程相关,未来仍需通过诱导细胞发生氧化应激反应或阻断细胞自噬过程进一步探讨;此外,本研究仅在三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞中进行研究和探讨,未探讨重楼皂苷在其他类型乳腺癌细胞中的作用及机制,未来仍需深入探讨。

【参考文献】

- [1] Oh S, Kim H, Nam K, *et al.* Glut1 promotes cell proliferation, migration and invasion by regulating epidermal growth factor receptor and integrin signaling in triple-negative breast cancer cells[J]. *BMB Rep*, 2017, 50(3): 132-137.
- [2] Cao ZY, Zhang QJ, Wu YJ, *et al.* Clinical effect of breast-conserving surgery in early triple negative breast cancer[J]. *Med J Chin PLA*, 2020, 45(9): 986-989. [曹志宇,张庆军,吴有军,等.早期三阴性乳腺癌保乳手术治疗的临床效果[J].*解放军医学杂志*, 2020, 45(9): 986-989.]
- [3] Zhu T, Wu W, Yang S, *et al.* Polyphyllin I inhibits propionibacterium acnes-induced inflammation *in vitro*[J]. *Inflammation*, 2019, 42(1): 35-44.
- [4] Ni BR, Dong XH, Liu Y, *et al.* Effects of polyphyllin VI on hepatocellular carcinoma HepG2 cell apoptosis[J]. *China J Trad Chin Med Pharm*, 2019, 34(4): 97-101. [倪博然,董晓旭,刘艺,等.重楼皂苷VI对肝癌HepG2细胞凋亡的作用[J].*中华中医药杂志*, 2019, 34(4): 97-101.]
- [5] Xiao MF. Effect of polyphyllin D on proliferation and apoptosis of human pancreatic cancer cells[J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2020, 45(6): 212-216. [萧梅芳.重楼皂苷D对人胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J].*中国中药杂志*, 2020, 45(6): 212-216.]
- [6] Liu YQ, Zhou ZY, Tan SY. Polyphyllin I inhibits human gastric cancer HGC-27 cells invasion by inducing autophagy[J]. *Chin J Gastroenterol Hepatol*, 2019, 28(1): 50-53. [刘燕群,周中银,谭诗云.重楼皂苷I通过调节细胞自噬抑制胃癌细胞侵袭能力[J].*胃肠病学和肝病学杂志*, 2019, 28(1): 50-53.]
- [7] Lu HP, Dang YW, Chen G. Research progress on role of ferroptosis suppressor protein 1 in human diseases[J]. *Med J Chin PLA*, 2021, 46(7): 731-736. [陆会平,党裔武,陈罡.铁死亡抑制蛋白1在人类疾病中的作用机制研究进展[J].*解放军医学杂志*, 2021, 46(7): 731-736.]
- [8] Kong R, Wang N, Han W, *et al.* IFN γ -mediated repression of system xc- drives vulnerability to induced ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2021, 110(2): 301-314.
- [9] Zhou Y, Yang J, Chen C, *et al.* Polyphyllin III-induced ferroptosis in mda-mb-231 triple-negative breast cancer cells can be protected against by KLF4-mediated upregulation of xCT[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 670224.
- [10] He XY, Wang JY, Song N, *et al.* Effects and mechanism of Erchen decoction and Taohong Siwu decoction on the regulation of p53/SLC7A11 mediated oxidative damage and ferroptosis on atherosclerosis[J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2020, 35(5): 2344-2348. [何信用,王俊岩,宋囡,等.二陈汤合桃红四物汤调控P53/SLC7A11介导的氧化损伤及铁死亡抗动脉粥样硬化的作用及机制研究[J].*中华中医药杂志*, 2020, 35(5): 2344-2348.]
- [11] Yano S, Takehara K, Kishimoto H, *et al.* High-metastatic triple-negative breast-cancer variants selected *in vivo* become chemoresistant *in vitro*[J]. *In vitro Cell Dev Biol Anim*, 2017, 53(4): 285-287.
- [12] Shen ZC, Shen JH, Xie XX, *et al.* Effects of polyphyllin I on the cell cycle and apoptosis of prostate cancer cells[J]. *J Mod Urol*, 2021, 26(10): 867-872. [申正超,申吉泓,谢星星,等.滇重楼皂苷对前列腺癌细胞周期与凋亡的影响[J].*现代泌尿外科杂志*, 2021, 26(10): 867-872.]
- [13] Li GB, Fu RQ, Shen HM, *et al.* Polyphyllin I induces mitophagic and apoptotic cell death in human breast cancer cells by increasing mitochondrial PINK1 levels[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(6): 10359-10374.
- [14] Zhang H, Ge Z, Wang Z, *et al.* Circular RNA RHOT1 promotes progression and inhibits ferroptosis *via* mir-106a-5p/STAT3 axis in breast cancer[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(6): 8115-8126.
- [15] Lin CC, Yang WH, Lin YT, *et al.* DDR2 upregulation confers ferroptosis susceptibility of recurrent breast tumors through the Hippo pathway[J]. *Oncogene*, 2021, 40(11): 2018-2034.
- [16] Hou Y, Cai S, Yu S, *et al.* Metformin induces ferroptosis by targeting miR-324-3p/GPX4 axis in breast cancer[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2021, 53(3): 333-341.
- [17] Lan B, Ge JW, Cheng SW, *et al.* Extract of naotaifang, a compound chinese herbal medicine, protects neuron ferroptosis induced by acute cerebral ischemia in rats[J]. *J Integr Med*, 2020, 18(4): 344-350.
- [18] Feng H, Schorpp K, Jin J, *et al.* Transferrin receptor is a specific ferroptosis marker[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(10): 3411-3423, e7.
- [19] Song Y, Wang B, Zhu X, *et al.* Human umbilical cord blood-derived MSCs exosome attenuate myocardial injury by inhibiting ferroptosis in acute myocardial infarction mice[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2021, 37(1): 51-64.
- [20] Zhang L, Wang F, Li D, *et al.* Transferrin receptor-mediated reactive oxygen species promotes ferroptosis of KGN cells *via* regulating NADPH oxidase 1/PTEN induced kinase 1/acyl-CoA synthetase long chain family member 4 signaling[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 4983-4994.
- [21] Su XM, Wang YY, Xu MC, *et al.* Anti-aging effects of Schisandrin C on H₂O₂-induced HaCaT[J]. *Med J Chin PLA*, 2021, 46(3): 221-230. [苏小明,王岳杨,徐铭晨,等.五味子丙素对H₂O₂诱导的HaCaT细胞衰老作用的影响及机制[J].*解放军医学杂志*, 2021, 46(3): 221-230.]
- [22] Chen L, Qiao L, Bian Y, *et al.* GDF15 knockdown promotes erastin-induced ferroptosis by decreasing SLC7A11 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526(2): 293-299.
- [23] Gao J, Li Y, Song R. SIRT2 inhibition exacerbates p53-mediated ferroptosis in mice following experimental traumatic brain injury[J]. *Neuroreport*, 2021, 32(12): 1001-1008.

(责任编辑:纪方方)