【基础研究】

探究山柰酚对肺癌细胞阿霉素耐药敏感性的作用机制

苏 娴[1]，王月宾[1]，蒋莎莎[2]，胡辉荣[1]，梁秋萍[1]，陈 锋[1]*
（1. 成都市第三人民医院呼吸与危重症科，四川成都 610014；2. 成都市第三人民医院肿瘤科，四川成都 610014）

摘要：目的 基于转化生长因子 β_1/Ras 相关 C3 肉毒素底物 1（transforming growth factor β_1/rasrelated C3 botulinum toxin substrate，TGF-β_1/Rac1）信号通路，探究山柰酚对肺癌细胞阿霉素耐药敏感性的作用机制。**方法** 将 H1299/R 细胞分为空白组（control group，NC）、山柰酚低、中、高剂量组、TGF-β_1 抑制剂组、Rac1 抑制剂组、山柰酚高剂量＋ TGF-β_1 抑制剂组、山柰酚高剂量＋ Rac1 抑制剂组以及山柰酚高剂量＋ TGF-β_1 抑制剂＋ Rac1 抑制剂组。MTT 检测细胞生长抑制率和细胞耐药敏感性；采用流式细胞仪检测细胞凋亡；Transwell 小室检测细胞侵袭；免疫印迹检测细胞中 TGF-β_1 和 Rac1 蛋白表达。**结果** 和 NC 组相比，山柰酚低、中、高剂量组、TGF-β_1 抑制剂组及 Rac1 抑制剂组的 H1299/R 细胞半数抑制浓度（half inhibitory concentration，IC_{50}）、细胞侵袭能力均显著降低，细胞凋亡率增加，且细胞中 TGF-β_1、Rac1 蛋白表达显著降低（$P < 0.05$）。和山柰酚高剂量组相比，山柰酚高剂量＋ TGF-β_1 抑制剂组、山柰酚高剂量＋ Rac1 抑制剂组和山柰酚高剂量＋ TGF-β_1 抑制剂＋ Rac1 抑制剂组 H1299/R 细胞 IC_{50}、细胞侵袭能力、TGF-β_1 以及 Rac1 蛋白表达均显著降低，细胞凋亡率明显增加（$P < 0.05$）。**结论** 山柰酚可逆转肺癌细胞阿霉素耐药，抑制阿霉素耐药细胞侵袭且促进凋亡，其机制可能与抑制 TGF-β_1/Rac1 信号通路相关。

关键词：山柰酚；肺癌；阿霉素耐药；基于转化生长因子 β_1/Ras 相关 C3 肉毒素底物 1 信号通路
中图分类号：R734.2；R-33 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188（2024）03-0268-08
DOI：10.13683/j.wph.2024.03.006

Study on the mechanism of kaempferol on adriamycin resistance sensitivity of lung cancer cells

SU Xian[1], WANG Yuebin[1], JIANG Shasha[2], HU Huirong[1], LIANG Qiuping[1], CHEN Feng[1]*
（*1. Department of Respiratory and Critical Care, the Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610014, Sichuan Province, China; 2. Department of Oncology, the Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610014, Sichuan Province, China*）

Abstract: ***Objective*** To explore the mechanism of kaempferol on adriamycin resistance sensitivity of lung cancer cells based on transforming growth factor β_1/Ras related C3 botox substrate 1（TGF-β_1/Rac1）signaling pathway. ***Methods*** H1299/R cells were divided into negative control group（NC）, kaempferol low, medium and high-dose groups, TGF-β_1 inhibitor group, Rac1 inhibitor group, kaempferol high-dose＋TGF-β_1 inhibitor group, kaempferol high-dose＋Rac1 inhibitor group, and kaempferol high-dose＋TGF-β_1 inhibitor＋Rac1 inhibitor group. MTT assay was used to detect the cell growth inhibition rate and drug resistance sensitivity. Flow cytometry was used to detect the cell apoptosis. Transwell chamber was used to detect the cell invasion. Western blotting was used to detect the expression of TGF-β_1 and Rac1 protein. ***Results*** Compared with NC group, the half inhibitory concentration（IC_{50}）, cell invasion ability in kaempferol low, medium and high-dose groups, TGF-β_1 inhibitor group, Rac1 inhibitor group were significantly decreased, while the cell apoptosis rate was increased, and the expression of TGF-β_1 and Rac1 protein were significantly decreased（$P<0.05$）. Compared with

收稿日期：2023-03-30
作者简介：苏娴，副主任医师，研究方向：哮喘、肺癌的诊治。
通信作者：陈锋，主任医师，研究方向：气道介入、肺癌的诊治。
基金项目：四川省卫生和计划生育委员会科研课题（18PJ404）

the kaempferol high-dose group, the IC50, cell invasion ability, TGF-β_1 and Rac1 protein expression of H1299/R cells in kaempferol high-dose＋TGF-β_1 inhibitor group, kaempferol high-dose＋Rac1 inhibitor group, and kaempferol high-dose＋TGF-β_1 inhibitor＋Rac1 inhibitor group were significantly decreased, while the cell apoptosis rate was significantly increased ($P<0.05$). ***Conclusion*** Kaempferol can reverse adriamycin resistance in lung cancer cells, inhibit the invasion of adriamycin resistant cells and promote apoptosis, the mechanism may be related to the inhibition of TGF-β_1/Rac1 signaling pathway.

Key words: kaempferol; lung cancer; adriamycin resistance; transforming growth factor β_1/rasrelated C3 botulinum toxin substrate 1 signaling pathway

肺癌是一种具有高发病率、高死亡率的恶性肿瘤[1]，其中非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer，NSCLC）约占肺癌的 85% 以上。阿霉素是目前抗肿瘤的常用抗生素之一，具有广谱性，其可进行抑制并杀伤肿瘤细胞[2]，但长时间使用阿霉素会导致细胞耐药的发生[3—4]。山柰酚主要来源于山柰根茎，在抗肿瘤、抗氧化等多种生物活性和药理作用中发挥重要作用[5]。目前有研究证实，山柰酚能抑制多种肿瘤细胞的生长和增殖，如乳腺癌、卵巢癌细胞等[6]。转化生长因子（transforming growth factor，TGF）β_1 介导肿瘤的发生发展，具有双向调节作用，在不同的肿瘤组织中其表达水平差异显著[7]。有学者研究发现，在 NSCLC 中 TGF-β_1 高表达，可能提示肿瘤细胞发生转移[8—9]。Ras 相关 C3 肉毒素底物（rasrelated C3 botulinum toxin substrate，Rac）1 可调控细胞骨架、细胞增殖以及基因转录与细胞迁移等多种生物学过程[10]。目前，关于山柰酚对 TGF-β_1/Rac1 信号通路的作用尚不明确，故现在 TGF-β_1/Rac1 信号通路的基础上探究山柰酚对肺癌细胞阿霉素耐药敏感性的作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞与仪器

山柰酚（54608195，纯度＞ 96%）购自美国 Sigma 公司，将山柰酚用二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide，DMSO）溶液稀释，配制成 100 mmol/L 的储存液，避光存于 −20 ℃冰箱；阿霉素（R034347，纯度＞ 97%）购自意大利法玛西亚普强公司；5- 氟尿嘧啶（QN0532-UYN）购自北京百奥莱博科技有限公司；TGF-β_1（GTX130023）和 Rac1 抗体（ab92486）均购自美国 Abcam 公司；DMSO（YT0849）购自北京伊塔生物科技有限公司；MTT 试剂盒（MH1001-500T）购自江苏麦格生物科技有限公司；Annexin V- 荧光素异硫氰酸酯（fluorescein isothiocyanate，FITC，HB-K3681）购自上海化邦生物科技有限公司；碘化丙啶（propidium iodide，PI，FY-PLS5833）购自上海富雨生物科技有限公司；Transwell 小室（3413）购自北京信生元生物医学科技有限公司；辣根过氧化物酶标记的二抗（BHR229-ml）购自北京博尔西科技有限公司；β- 肌动蛋白抗体（ab8227）和增强化学发光（enhanced chemiluminescence，ECL）试剂盒（RP10200）均购自美国 Santa Cruz 公司；TGF-β_1 受体阻断剂 SB431542（W050076）和 Rac1 抑制剂 NSC23766（029597）均购自美国 Cayman Chemical 公司；胎牛血清（fetal bovine serum，FBS，p302602，500 ml）、杜尔贝科改良 eagle 培养基高糖培养基（12800-017）以及青霉素 - 链霉素（15140122，100 ml）均购自美国 Gibco 公司；胰蛋白酶（S881002）购自鼎国试剂公司；TRizol 试剂盒（abs9331）购自上海华舜生物工程有限公司；高速低温离心机（GER-10C）购自德国 Eppendorf 公司；流式细胞仪（CytoFLFX SRT）购自贝克曼库尔特国际贸易（上海）有限公司；酶标仪（Multiskan FC）购自赛默飞世尔科技有限公司；蛋白电泳仪（Crystagen）购自本生（天津）健康科技有限公司。

人肺癌 H1299 细胞株由国家干细胞库提供。根据文献[11]方法，使用不同浓度阿霉素培养 H1299 细

胞，当细胞在浓度为 5 μg/ml 的阿霉素中存活比例高于 80% 时，即为阿霉素耐药细胞株 H1299/R。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

将 H1299 细胞培养在含 10%FBS 和双抗青霉素（100 U/ml）- 链霉素（100 μg/ml）的洛斯维·帕克纪念研究所（Roswell Park Memorial Institute，RPMI）1640 培养基中，H1299/R 细胞培养于含有 5 μg/ml 阿霉素的培养基中，均置于 37 ℃，5% 二氧化碳的加湿培养箱中培养，待细胞贴壁生长，培养液每天更换 1 次，2 ～ 3 d 传代 1 次，取对数生长的细胞用于试验。

1.2.2 分组及药物干预

将 H1299/R 细胞分为空白组，山柰酚低剂量组（10 μmol/L 山柰酚），山柰酚中剂量组（40 μmol/L 山柰酚），山柰酚高剂量组（80 μmol/L 山柰酚），TGF-β_1 抑制剂组（10 μmol/L SB431542），Rac1 抑制剂组（50 μmol/L NSC23766），山柰酚高剂量＋TGF-β_1 抑制剂组（80 μmol/L 山柰酚和 10 μmol/L SB431542），山柰酚高剂量＋ Rac1 抑制剂组（80 μmol/L 山柰酚和 50 μmol/L NSC23766），山柰酚高剂量＋TGF-β_1 抑制剂＋ Rac1 抑制剂组（80 μmol/L 山柰酚＋10 μmol/L SB431542 ＋ 50 μmol/L NSC23766），氟尿嘧啶组（0.77 mmol/L 5- 氟尿嘧啶），均培养 24 h。

1.2.3 MTT 检测山柰酚对细胞活性的影响

取处于对数期的 H1299 细胞，分别将细胞浓度调整为 6×10^4 个 /ml 后接种于 96 孔板中，每孔加细胞培养液 100 μl。将细胞分为对照组（无药物干预组）和试验组。试验组细胞分别给予含不同浓度（10、40、80、120、150 以及 200 μmol/L）山柰酚进行培养，干预 48 h 后，MTT 法测定细胞存活率为（$OD_{试验组}-OD_{空白组}$）/（$OD_{对照组}-OD_{空白组}$）×100%，实验重复 3 次。

1.2.4 MTT 法检测山柰酚逆转 H1299/R 细胞耐药活性

将各组细胞接种于 96 孔板中，培养 24 h，加入终浓度为 5 μg/ml 阿霉素，MTT 法测定细胞存活率，计算各组细胞增殖抑制率，软件计算细胞半抑制浓度（half inhibitory conecentration，IC_{50}）和逆转耐药倍数。逆转耐药倍数＝对照组 IC_{50}/ 试验组 IC_{50}。

1.2.5 流式细胞术检测山柰酚对 H1299/R 细胞凋亡影响

取“**1.2.1**”中各组细胞，调整细胞密度为 6×10^4 个 /ml，接种于 24 孔板中，培养 24 h，分别加入含有 5 μg/ml 阿霉素的无血清培养基，继续培养 48 h，收集各组细胞并洗涤，将 500 μl 缓冲液加入细胞中，重悬细胞后将 5 μl Annexin V-FITC 加入细胞中，充分混匀后加入 5 μl PI，避光孵育 10 min，流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.6 Transwell 小室检测山柰酚对 H1299/R 细胞侵袭影响

取“**1.2.1**”中各组细胞，调整细胞密度为 6×10^4 个 /ml，接种于 96 孔板中，培养 24 h，分别加入含有 5 μg/ml 阿霉素的无血清培养基，继续培养 48 h，收集各组细胞，胰酶消化细胞后稀释细胞浓度为 5×10^5 μg/ml。在 24 孔培养板中加入 500 μl 含 10% FBS 的细胞培养基待用，另一 24 孔板中加入 Transwell 小室，将细胞悬液加入 Transwell 小室中，转移 Transwell 小室至加入细胞培养基的 24 孔细胞培养板上，常规培养箱培养 24 h，取出 Transwell 小室，将小室内多于的细胞擦掉，显微镜下观察细胞并计数。

1.2.7 免疫印迹法（western blotting，WB）检测山柰酚对 H1299/R 细胞中 TGF-β_1、Rac1 蛋白表达影响

取“**1.2.1**”中各组细胞，将密度调整为 3×10^5 个 /ml 接种于 6 孔板内，待细胞贴壁后胰酶消化并收集细胞样品，加入适量裂解液超声裂解细胞，14 170 *g* 离心 10 min，吸取上清液，用二喹啉甲酸蛋白浓度测定法进行蛋白定量。按照十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳凝胶试剂盒说明书，分别配置 5% 浓缩胶和 8% 分离胶。将蛋白样品加至胶孔中，电泳后转膜 2 h。加适量 5% 封闭液激活聚偏二氟乙烯（polyvunylidene fluoride，PVDF）膜，室温下封闭

1 h。将 PVDF 膜浸润于目的蛋白 TGF-β_1、Rac1 以及内参 β- 肌动蛋白的一抗溶液中，于 4 ℃孵育过夜。次日用 TBS-T 缓冲液清洗一抗，加入辣根过氧化物酶标记的二抗（1 ∶ 1 000），室温孵育 2 h，结束后用 TBS-T 缓冲液清洗二抗。将 PVDF 膜用 ECL 检测液浸润 1 ～ 2 min，置于化学发光成像系统中成像。

1.3 统计学分析

所有数据采用 Graphpad priam 8.0 软件进行统计学分析，本文数据均符合正态分布，计量资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，不同组间数据采用单因素方差分析，使用 Student-Newman-Keuls 或 Bonferroni 法进行多次两两比较，以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 山柰酚对 H1299 细胞存活率的影响

与 0 μmol/L 相比，其他各浓度山柰酚的细胞存活率明显降低，且具有浓度依赖性（$P < 0.05$）。当山柰酚浓度在 120 μmol/L 时，细胞存活率约降低 50%，见表 1。故选择 10、40 以及 80 μmol/L 浓度用于下一步试验。

表 1 山柰酚对 H1299 细胞存活率的影响
Table 1 The effect of kaempferol on the survival rate of H1299 cells

H1299细胞浓度/μmol·L^{-1}	细胞存活率/%
0	100.00±9.36
10	98.79±7.15[a]
40	79.12±5.89[a]
80	55.06±4.63[a]
120	49.32±3.98[a]
150	40.23±3.06[a]
200	35.75±0.36[a]

注：与 0 μmol/L 相比，[a]$P < 0.05$。
Note: *vs* 0 μmol/L, [a]$P < 0.05$.

2.2 山柰酚对 H1299/R 细胞的影响

与空白组相比，山柰酚低、中以及高剂量组 H1299/R 细胞 IC_{50}、侵袭数量、TGF-β_1 及 Rac1 蛋白水平均显著降低，逆转倍数分别为 1.29，1.81 及 2.87，呈递增趋势，细胞凋亡率显著升高（$P < 0.05$）。山柰酚高剂量组与氟尿嘧啶组比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$），见图 1 ～ 3、表 2。

2.3 TGF-β_1 抑制剂对 H1299/R 细胞的影响

与空白组相比，TGF-β_1 抑制剂组 H1299/R 细胞 IC_{50}、侵袭数量、TGF-β_1 及 Rac1 蛋白水平均显著降低，逆转倍数 2.73，细胞凋亡率明显升高（$P < 0.05$），见图 4 ～ 6、表 2。

2.4 Rac1 抑制剂对 H1299/R 细胞的影响

与空白组相比，Rac1 抑制剂组 H1299/R 细胞 IC_{50} 侵袭数量、TGF-β_1 及 Rac1 蛋白水平均显著降低，逆转倍数 2.79，细胞凋亡率明显增升高（$P < 0.05$），见图 7 ～ 9、表 2。

2.5 TGF-β_1 抑制剂＋ Rac1 抑制剂组对 H1299/R 细胞的影响

与山柰酚高剂量组相比，山柰酚高剂量＋ TGF-β_1 抑制剂组、山柰酚高剂量＋ Rac1 抑制剂组以及山柰酚高剂量＋ TGF-β_1 抑制剂＋ Rac1 抑制剂组 H1299/R 细胞 IC_{50}、侵袭数量、TGF-β_1 及 Rac1 蛋白水平均显著降低，细胞凋亡率明显升高（$P < 0.05$）。山柰酚高剂量＋ TGF-β_1 抑制剂组与山柰酚高剂量＋ Rac1 抑制剂组比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$），见表 2。

3 讨论

山柰酚作为一种黄酮类化合物，结构稳定，易被机体吸收[11]。山柰酚具有抗氧化、抗炎、保护心血管、镇痛和抗过敏等作用[12]。其通过阻滞肿瘤细胞的增殖以抑制肿瘤发展[13—14]。

肿瘤的多药耐药性是影响化疗效果的重要原因之一，亦是临床关注的热点[15]。本研究结果显示，不同浓度山柰酚可显著降低 H1299/R 细胞的 IC_{50}，提示山柰酚可逆转 H1299/R 细胞阿霉素的耐药。增殖和凋亡实验结果显示，山柰酚可促进 H1299/R 细胞凋亡，抑制 H1299/R 细胞侵袭，提示山柰酚可通过调控肺癌细胞的生物活性对肿瘤细胞发挥抑制作用。有学者发现，山柰酚可抑制前列腺癌 22RV1 细胞增殖、迁移及侵袭[16]，同时，山柰酚还可介导肿

表 2 H1299/R 细胞耐药性、侵袭、凋亡、TGF-β_1 及 Rac1 的蛋白表达比较

Table 2 Comparison of drug resistance, invasion, apoptosis, TGF-β_1 and Rac1 protein expression in H1299/R cells

组别	IC_{50}	细胞凋亡率/%	细胞侵袭数目/个	TGF-β_1蛋白	Rac1蛋白
空白组	35.14±2.12	3.21±0.56	83.46±3.15	1.00±0.10	1.00±0.10
山柰酚低剂量组	30.46±1.85*	8.36±0.89*	62.17±2.83*	0.83±0.08*	0.86±0.08*
山柰酚中剂量组	25.34±1.51*#	14.81±1.57*#	43.62±2.01*#	0.61±0.15*#	0.65±0.06*#
山柰酚高剂量组	21.62±1.35*#▲	23.46±1.82*#▲	24.13±1.56*#▲	0.42±0.03*#▲	0.51±0.04*#▲
氟尿嘧啶组	20.86±1.32*#▲	22.97±1.80*#▲	23.89±1.52*#▲	0.40±0.03*#▲	0.50±0.04*#▲
TGF-β_1抑制剂组	20.82±1.48*	24.01±1.85*	25.03±1.64*	0.45±0.06*	0.53±0.04*
Rac1抑制剂	21.05±1.45*	24.12±1.86*	24.82±1.65*	0.43±0.04*	0.55±0.04*
山柰酚高剂量＋TGF-β_1抑制剂组	18.34±1.03△	35.81±2.04△	21.45±1.32△	0.31±0.03△	0.42±0.03△
山柰酚高剂量＋Rac1抑制剂组	18.17±1.01△	36.02±2.12△	22.06±1.28△	0.30±0.03△	0.40±0.03△
山柰酚高剂量＋TGF-β_1抑制剂＋Rac1抑制剂组	15.22±0.78△▼	42.15±2.43△▼	17.34±1.15△▼	0.21±0.02△▼	0.32±0.02△▼

注：与空白组相比，*P<0.05；与山柰酚低剂量组相比，#P<0.05；与山柰酚中剂量组相比，▲P<0.05；与山柰酚高剂量组相比，△P<0.05，与山柰酚高剂量＋TGF-β1抑制剂组相比，▼P<0.05。

Note: *vs* blank group, *P < 0.05; *vs* Kaempferol low-dose group, #P < 0.05; *vs* Kaempferol medium-dose group, ▲P < 0.05; *vs* Kaempferol high-dose group, △P < 0.05; *vs* Kaempferol high-dose + TGF-β_1 inhibitor group, ▼P < 0.05.

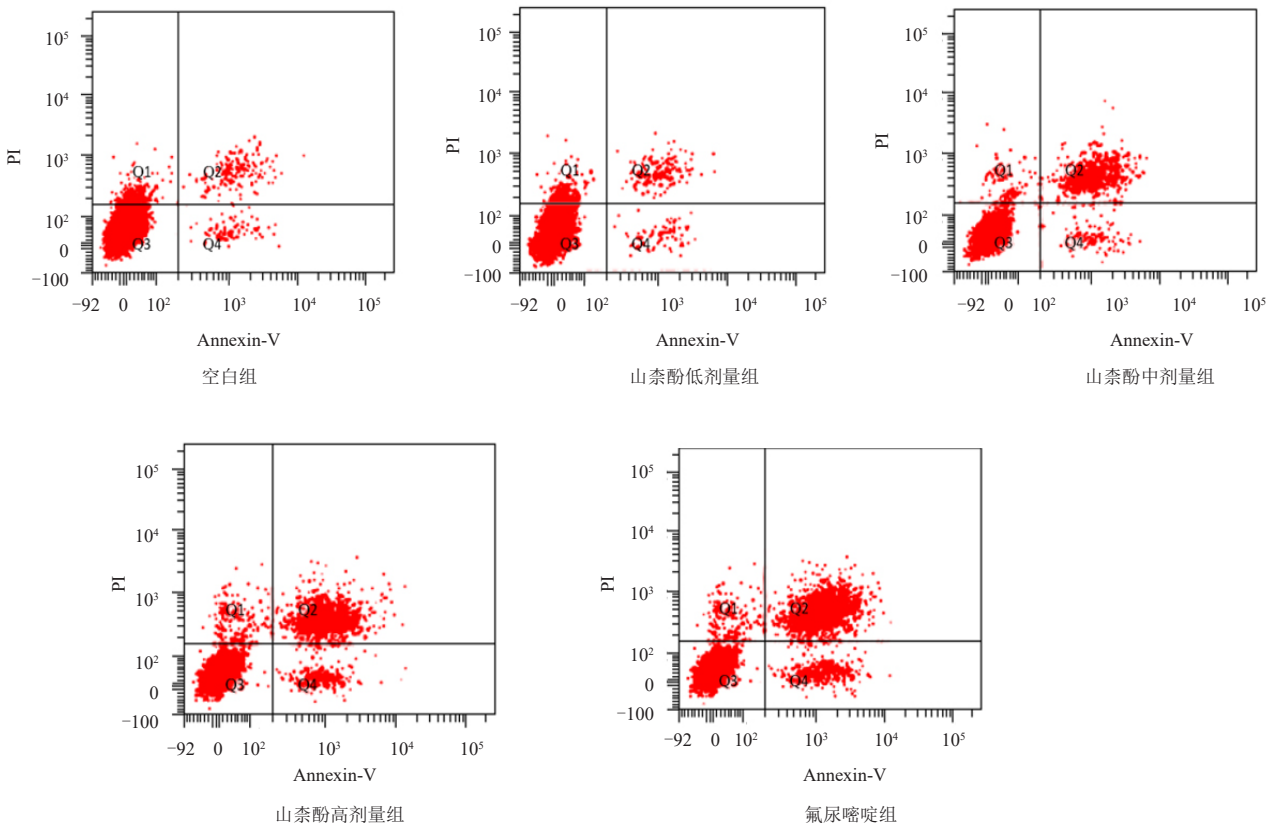


图 1 山柰酚对 H1299/R 细胞凋亡率的影响

Figure 1 Effect of kaempferol on apoptosis rate of H1299/R cells

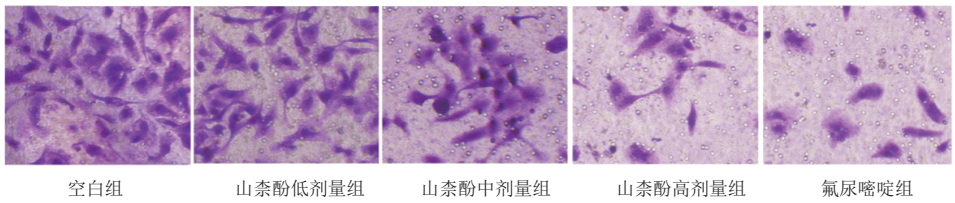


图 2　山柰酚对 H1299/R 细胞侵袭数目的影响
Figure 2　Effect of kaempferol on the invasion number of H1299/R cells

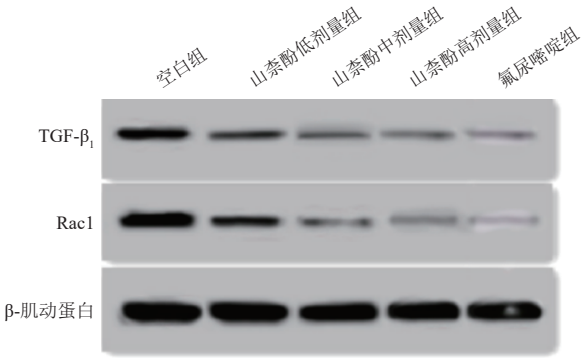


图 3　山柰酚对 H1299/R 细胞 TGF-β_1 和 Rac1 蛋白表达的影响
Figure 3　Effects of kaempferol on expression of TGF-β_1 and Rac1 in H1299/R cells

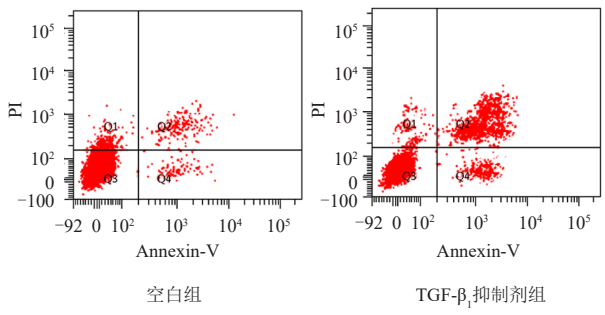


图 4　TGF-β_1 抑制剂对 H1299/R 细胞凋亡率的影响
Figure 4　Effect of TGF-β_1 inhibitors on apoptosis rate of H1299/R cells

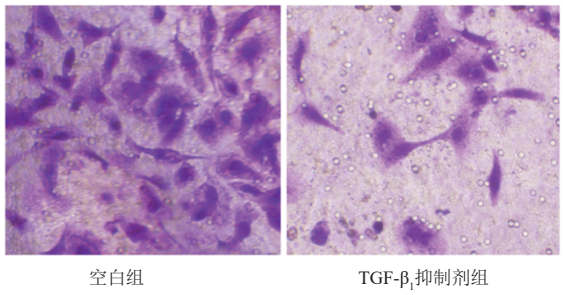


图 5　TGF-β_1 抑制剂对 H1299/R 细胞侵袭数目的影响
Figure 5　Effect of TGF-β_1 inhibitors on the number of H1299/R cells

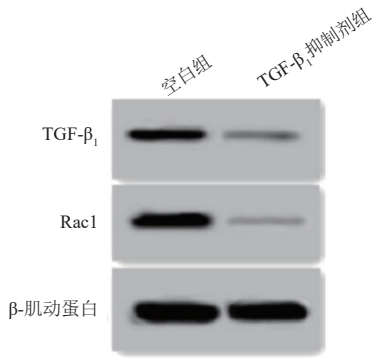


图 6　TGF-β_1 抑制剂对 H1299/R 细胞 TGF-β_1 和 Rac1 的蛋白表达的影响
Figure 6　Effect of TGF-β_1 inhibitors on expression of TGF-β_1 and Rac1 in H1299/R cells

瘤细胞凋亡[17]。李鹰飞等[18]通过体外试验发现，山柰酚通过调控 Notch1/Cleaved/caspase-3 蛋白表达抑制乳腺癌 SK-BR-3 细胞增殖，并诱导其发生凋亡。陈卓等[19]针对胰腺癌 PANC-1 细胞不同浓度的山柰酚进行干预，结果表明山柰酚可提高 PANC-1 细胞 S 期凋亡率，抑制细胞增殖，且呈现浓度依赖性。

有研究表明，TGF-β_1 对肿瘤微环境有促进作用，同时促进肿瘤血管生成并诱导上皮间质转化的发生，并对肺癌的发生发展有重要影响[20]。有学者发现，早期肺癌中 TGF-β_1 可抑制肿瘤细胞的恶性增殖，但该抑制作用通常在肺癌的晚期受到一定抑制[21]。研究显示，Rac1 能调控细胞迁移、细胞吞噬等多种生

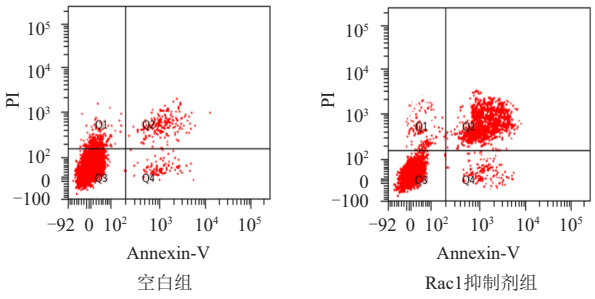


图 7 Rac1 抑制剂对 H1299/R 细胞凋亡率的影响
Figure 7 Effect of Rac1 inhibitors on apoptosis rate of H1299/R cells

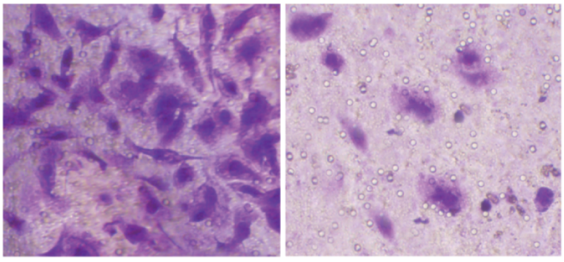


图 8 Rac1 抑制剂对 H1299/R 细胞侵袭数目的影响
Figure 8 Effect of Rac1 inhibitors on the number of H1299/R cells

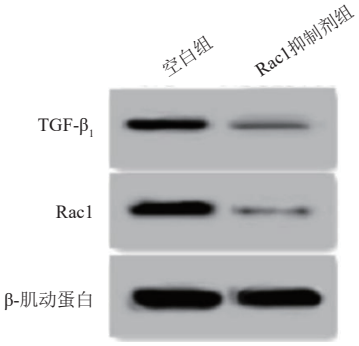


图 9 Rac1 抑制剂对 H1299/R 细胞 TGF-β_1 和 Rac1 的蛋白表达的影响
Figure 9 Effect of Rac1 inhibitors on expression of TGF-β_1 and Rac1 in H1299/R cells

物学功能，且在肿瘤迁移、增殖中发挥重要作用[22]。另有研究显示，Rac1 信使 RNA 在胃癌组织和癌旁组织中表达阳性，在腺癌中表达弱阳性，而在正常组织中表达阴性，提示 Rac1 与胃癌的恶性程度有关[20]。本研究结果显示，TGF-β_1 和 Rac1 在肺癌 H1299/R 细胞中高表达，山柰酚可降低肺癌 H1299/R 细胞中 TGF-β_1 和 Rac1 表达。TGF-β_1 抑制剂和 Rac1 抑制剂均能逆转 H1299/R 细胞阿霉素耐药，抑制细胞侵袭，促进细胞凋亡，且降低细胞中 TGF-β_1 和 Rac1 的表达。山柰酚联合 TGF-β_1 抑制剂及山柰酚联合 Rac1 抑制剂对逆转 H1299/R 细胞阿霉素耐药效果显著，细胞凋亡率增加，侵袭数量、TGF-β_1 和 Rac1 的表达显著降低。综合以上结果，山柰酚可逆转肺癌细胞阿霉素耐药，抑制细胞侵袭，促进细胞凋亡，可能与抑制细胞中 TGF-β_1 和 Rac1 表达有关。

4 结论

综上所述，山柰酚可逆转肺癌 H1299 细胞阿霉素耐药、抑制细胞侵袭、促进细胞凋亡，其机制可能与抑制 TGF-β_1/Rac1 信号通路相关。

参考文献：

[1] Lu Y, Xue JX, Deng T, *et al*. Safety and feasibility of CRISPR-edited T cells in patients with refractory non-small-cell lung cancer[J]. Nat Med, 2020, 26(5): 732-740.

[2] 盖晓东, 赵颖, 王鹤霏, 等. FOXP3调控非小细胞肺癌A549细胞对阿霉素敏感性的作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2023, 49(5): 1161-1167.

[3] Jin Y, Wang H, Zhu Y, *et al*. MiR-199a-5p is involved in doxorubicin resistance of non-small cell lung cancer (NSCLC) cells[J]. Eur J Pharmacol, 2020, 878: 173105.

[4] 高磊, 郝彩霞, 杨国旺, 等. 化瘀丸含药血清对Lewis肺癌细胞内阿霉素药物浓度的影响[J]. 中医杂志, 2020, 61(9): 810-813.

[5] Wang Y, Chen H, Zhang H. Kaempferol promotes proliferation, migration and differentiation of MC3T3-E1 cells via up-regulation of microRNA-101[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1): 1050-1056.

[6] 张磊, 林晓萌, 曹哲丽, 等. 山柰酚诱导三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231中乳腺癌耐药蛋白的表达并下调抗肿瘤药物对MDA-MB-231细胞的杀伤作用[J]. 科学技术与工程, 2019, 19(20): 91-96.

[7] 王仕娇, 王纯, 张敏, 等. 中药基于TGF-β/Smad信号转导通路调控肿瘤细胞[J]. 生命的化学, 2020, 40(4): 535-541.

[8] 张汀荣, 陆向东, 张瑶, 等. CTEN通过TGF-β_1促进非小细胞

肺癌细胞紫杉醇耐药的作用及机制研究[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(12): 2035-2040.
[9] 杨珺超, 徐璐, 宋康, 等. 虎杖苷对TGF-β_1诱导的人类肺泡上皮A549细胞EMT的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(4): 466-470.
[10] 傅小一, 尹丽华, 缪雨. Rac1对胃癌侵袭转移的作用及相关分子病理学机制[J]. 宜春学院学报, 2017, 39(9): 57-58.
[11] 阿地力江·萨吾提, 木塔力甫·艾买提, 周文婷, 等. 山柰酚诱导人乳腺癌耐阿霉素细胞MCF-7/阿霉素凋亡的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(11): 1380-1384.
[12] 陈慧, 陈玉梅, 胡招娣, 等. 人肺癌H1299阿霉素耐药性细胞株的建立及鉴定[J]. 赣南师范大学学报, 2020, 41(6): 79-82.
[13] 阿地力江·萨吾提, 木塔力甫·艾买提, 周文婷, 等. 山柰酚逆转MCF-7/阿霉素细胞耐药机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(14): 1806-1810.
[14] 杨生辉, 黄琰菁, 莫安薇, 等. 山柰酚通过调控miR21抑制非小细胞肺癌A549细胞增殖的研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(13): 1557-1562.
[15] 刘迎雪, 贾秀红, 李琳, 等. 山柰酚逆转慢性粒细胞白血病K562/ADM细胞耐药性及相关机制[J]. 白血病·淋巴瘤, 2020, 29(1): 23-29.
[16] 赵文杰, 杨森, 张城栋. 基于PI3K/AKT/mTOR轴山柰酚对前列腺癌22RV1细胞增殖、转移的作用研究[J]. 临床泌尿外科杂志, 2023, 38(4): 271-276.
[17] 赵小双, 杨海波, 赵荫涛, 等. 山柰酚对大鼠心肌细胞H9c2凋亡的影响[J]. 郑州大学学报, 2019, 54(1): 106-110.
[18] 李鹰飞, 曾世彬, 邱华平, 等. 山柰酚对乳腺癌细胞增殖及诱导凋亡的作用研究及机制[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(22): 3679-3682.
[19] 陈卓, 刘胜楠, 吴克俭, 等. 不同剂量山柰酚对胰腺癌细胞株PANC-1增殖、凋亡的影响及机制探讨[J]. 山东医药, 2018, 58(3): 27-30.
[20] 陈兰玉, 胡凯文. 基于TGF-β信号通路探讨中医药改善肿瘤免疫微环境的研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(11): 1735-1738.
[21] 齐宏峰, 刘金香, 庞大斌, 等. TIPE2、TGF-β_1在非小细胞肺癌中的表达和意义[J]. 医学信息, 2023, 36(20): 109-112.
[22] Chen M, Li H, Xu X, *et al*. Identification of RAC1 in promoting brain metastasis of lung adenocarcinoma using single-cell transcriptome sequencing[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(5): 330.

（编辑：沈佳婕）

广 告 索 引

封二	石药集团明复乐药业(广州)有限公司	前彩插1	山东齐鲁制药集团有限公司
封三	山东罗欣药业集团股份有限公司	前彩插2	《世界临床药物》杂志征订信息
封底	中国医药工业信息中心	238页：	公益广告