

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research姜黄素与西达苯胺基于 IFN - RIG - I - MAVS
通路协同抑制乳腺癌细胞恶性行为的研究Research on the synergistic inhibition of malignant behavior of breast cancer cells
by curcumin and chidamide based on IFN - RIG - I - MAVS pathway潘 越¹, 张臣鸣²

(1. 武汉市第三医院 胸外科, 湖北 武汉 430061;

2. 武汉市第三医院 骨科, 湖北 武汉 430061)

PAN Yue¹, ZHANG Chen - ming²(1. Department of Thoracic Surgery,
Wuhan Third Hospital, Wuhan 430061,
Hubei Province, China; 2. Department of
Orthopedics, Wuhan Third Hospital,
Wuhan 430061, Hubei Province, China)

基金项目: 武汉市中医药科研基金资助项目
(WZ24Q18); 武汉市医学科学研究
基金资助项目(WX23Z29)

作者简介: 潘越(1992 -), 女, 主治医师, 主要从
事乳腺癌及肺癌方面的临床工作和
研究

通信作者: 张臣鸣, 主治医师

Tel: (027) 68894680

E - mail: myr7n7@163.com

摘要:目的 探索姜黄素(CUR)与西达苯胺(CHI)通过干扰素(IFN) - 视黄酸诱导基因 I (RIG - I) - 线粒体抗病毒信号蛋白(MAVS)通路协同抑制乳腺癌(BC)细胞恶性行为的分子机制。方法 用乳腺癌细胞 MCF - 7 建立细胞模型。将细胞分为 5 组, 包括空白组(正常培养)、CUR 组($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR)、CHI 组($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI)、联合组($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR + $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI)和抑制剂组(sh - IFN + $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR + $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI)。用 3 - (4,5 - 二甲基噻唑 - 2) - 2,5 - 二苯基四氮唑溴盐(MTT)法检测细胞活力, 用平板克隆形成实验法检测细胞增殖能力, 用 Transwell 和细胞划痕实验法检测细胞迁移能力, 用蛋白质印迹法(WB)检测凋亡相关蛋白和 IFN - RIG - I - MAVS 通路相关蛋白的相对表达水平。结果 在 0、10、20 和 $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR 中, CHI 的半数抑制浓度(IC_{50})分别为(31.48 ± 2.01)、(17.57 ± 0.65)、(7.56 ± 0.32)和(0.21 ± 0.02) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 10、20 和 $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR 与 $0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR 相比, IC_{50} 在统计学上差异均有统计学意义, 并呈剂量依赖性(均 $P < 0.05$)。空白组、CUR 组、CHI 组、联合组和抑制剂组的克隆形成数分别为(201.28 ± 23.96)、(113.43 ± 15.59)、(109.93 ± 11.64)、(59.57 ± 6.91)和(87.43 ± 5.04)个; 穿膜细胞数分别为(115.03 ± 13.05)、(86.51 ± 9.13)、(77.82 ± 6.68)、(39.54 ± 5.43)和(68.92 ± 3.95)个; 划痕修复率分别为(51.29 ± 5.17)%、(32.80 ± 2.94)%、(31.23 ± 3.10)%、(16.07 ± 2.11)%和(26.94 ± 1.95)%; 细胞凋亡率分别为(2.21 ± 0.16)%、(12.03 ± 0.85)%、(12.89 ± 0.99)%、(31.62 ± 2.98)%和(16.85 ± 1.04)%; Caspase - 3 相对表达水平分别为 0.38 ± 0.03 、 0.55 ± 0.03 、 0.52 ± 0.04 、 1.12 ± 0.07 和 0.97 ± 0.05 ; Caspase - 9 相对表达水平分别为 0.33 ± 0.02 、 0.53 ± 0.02 、 0.55 ± 0.04 、 1.05 ± 0.06 和 0.60 ± 0.05 ; Bax 相对表达水平分别为 0.34 ± 0.03 、 0.52 ± 0.03 、 0.53 ± 0.03 、 1.08 ± 0.07 和 0.69 ± 0.06 ; IFN - β 相对表达水平分别为 0.33 ± 0.03 、 0.46 ± 0.04 、 0.53 ± 0.04 、 1.09 ± 0.10 和 0.45 ± 0.03 ; RIG - I 相对表达水平分别为 0.32 ± 0.02 、 0.57 ± 0.05 、 0.65 ± 0.04 、 1.02 ± 0.11 和 0.59 ± 0.05 ; MAVS 相对表达水平分别为 0.34 ± 0.02 、 0.41 ± 0.03 、 0.49 ± 0.04 、 1.04 ± 0.12 和 0.51 ± 0.04 , CUR 组和 CHI 组的上述指标与空白组比较, 联合组的上述指标与 CUR 组和 CHI 组比较, 抑制剂组的上述指标与联合组比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 CUR 具有增加 BC 细胞对 CHI 敏感性的作用, 可以协同 CHI 发挥抗 BC 作用, 其作用机制与 CUR 激活 IFN - RIG - I - MAVS 通路有关。

关键词: 姜黄素; 西达苯胺; 乳腺癌; 干扰素 - 视黄酸诱导基因 I - 线粒体抗病毒信号蛋白通路

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.01.010

中图分类号: R737.9

文献标志码: A

文章编号: 1001 - 6821 (2026) 01 - 0059 - 07

Abstract: Objective To explore the molecular mechanism by which

curcumin (CUR) and chidamide (CHI) synergistically inhibit the malignant behaviors of breast cancer (BC) cells through the interferon (IFN) – retinoic acid – inducible gene I (RIG – I) – mitochondrial antiviral – signaling protein (MAVS) pathway. **Methods** A cellular model was established using MCF – 7 breast cancer cells. The cells were divided into five groups: blank group (normol cultured), CUR group ($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR), CHI group ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI), combination group ($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR + $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI) and inhibitor group (sh – IFN + $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR + $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI). Cell viability was assessed using the 3 – (4,5 – dimethylthiazol – 2 – yl) – 2,5 – diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Cell proliferation capacity was evaluated by plate colony formation assay. Cell migration ability was examined using Transwell and wound healing assays. The relative expression levels of apoptosis – related proteins and IFN – RIG – I – MAVS pathway – associated proteins were detected by Western blotting (WB). **Results** Under CUR concentrations of 0, 10, 20 and $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, the half – maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) of CHI were (31.48 ± 2.01), (17.57 ± 0.65), (7.56 ± 0.32) and (0.21 ± 0.02) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. Statistically significant dose – dependent reductions in IC_{50} were observed for CHI when combined with 10, 20 and $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR compared to $0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR (all $P < 0.05$). The colony formation numbers were (201.28 ± 23.96) cells for the control group, (113.43 ± 15.59) cells for the CUR group, (109.93 ± 11.64) cells for the CHI group, (59.57 ± 6.91) cells for the combination group, and (87.43 ± 5.04) cells for the inhibitor group, respectively; the numbers of invasive cells were (115.03 ± 13.05), (86.51 ± 9.13), (77.82 ± 6.68), (39.54 ± 5.43) and (68.92 ± 3.95) cells, respectively; the wound closure rates were (51.29 ± 5.17)%, (32.80 ± 2.94)%, (31.23 ± 3.10)%, (16.07 ± 2.11)% and (26.94 ± 1.95)%, respectively; the apoptosis rates were (2.21 ± 0.16)%, (12.03 ± 0.85)%, (12.89 ± 0.99)%, (31.62 ± 2.98)% and (16.85 ± 1.04)%, respectively; the relative expression levels of Caspase – 3 were 0.38 ± 0.03 , 0.55 ± 0.03 , 0.52 ± 0.04 , 1.12 ± 0.07 and 0.97 ± 0.05 , respectively; the relative expression levels of Caspase – 9 levels were 0.33 ± 0.02 , 0.53 ± 0.02 , 0.55 ± 0.04 , 1.05 ± 0.06 and 0.60 ± 0.05 , respectively; the relative expression levels of Bax levels were 0.34 ± 0.03 , 0.52 ± 0.03 , 0.53 ± 0.03 , 1.08 ± 0.07 and 0.69 ± 0.06 , respectively; the relative expression levels of IFN – β levels were 0.33 ± 0.03 , 0.46 ± 0.04 , 0.53 ± 0.04 , 1.09 ± 0.10 and 0.45 ± 0.03 , respectively; the relative expression levels of RIG – I levels were 0.32 ± 0.02 , 0.57 ± 0.05 , 0.65 ± 0.04 , 1.02 ± 0.11 and 0.59 ± 0.05 , respectively; and the relative expression levels of MAVS levels were 0.34 ± 0.02 , 0.41 ± 0.03 , 0.49 ± 0.04 , 1.04 ± 0.12 and 0.51 ± 0.04 , respectively. Statistically significant differences were observed when comparing the CUR and CHI groups to the control group, the combination group to the CUR and CHI groups, and the inhibitor group to the combination group (all $P < 0.05$). **Conclusion** CUR enhances the sensitivity of BC cells to CHI and synergistically exerts anti – BC effects with CHI, and its mechanism of action is related to the activation of the IFN – RIG – I – MAVS pathway by CUR.

Key words: curcumin; chidamide; breast cancer; interferon – retinoic acid – inducible gene I – mitochondrial antiviral – signaling protein pathway

乳腺癌(breast cancer, BC)是全球女性常见恶性肿瘤^[1],在女性癌症病例中占比颇高^[2]。尽管诊疗技术持续进步,但高化疗耐药率与转移率仍致使 BC 患者预后不良^[3]。组蛋白乙酰化修饰在异质性较高的 BC 发展进程中起着关键作用^[4]。西达苯胺(chidamide, CHI)作为我国自主研发的组蛋白去乙酰化酶抑制剂已广泛应用于 BC 治疗^[5]。然而,长期应用会使细胞敏感性降低,限制其疗效^[6]。故而寻找能增强 BC 细胞对 CHI 敏感性的药物至关重要。姜黄素(curcumin, CUR)源自姜黄,可以抑制 BC 细胞迁移、转移及增殖,具备抗多药耐药活性,能与化疗药物联用以增强敏感性^[7]。干扰素(interferon,

IFN) – 视黄酸诱导基因I(retinoic acid – inducible gene I, RIG – I) – 线粒体抗病毒信号蛋白(mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS)通路是癌症免疫信号转导的关键途径^[8]。本课题组前期研究发现,该通路在耐药 BC 细胞中表现出显著的差异,但其在 BC 中的具体机制尚未明确。因此,本研究旨在探讨 CUR 与 CHI 联用,通过 IFN – RIG – I – MAVS 通路协同抑制乳腺癌细胞的恶性行为,期望为 BC 的化疗提供新策略。

材料和方法

1 材料

细胞 人乳腺癌细胞系 MCF – 7,购于上海细胞

生物化学研究所。

药品与试剂 姜黄素,规格:每瓶 25g,纯度: $\geq 95\%$,批号: C799233,上海麦克林生化科技股份有限公司生产;西达本胺,规格:每瓶 10 mg,纯度: 98.60%,批号: HY-109015,美国 Med Chem Express 生物科技公司生产;杜氏改良伊格尔培养基和 0.25% 1 × 胰蛋白酶/乙二胺四乙酸,均由美国 Gibco 公司生产;胎牛血清,澳大利亚 AusGeneX 公司生产;3-(4,5-二甲基-2-噻唑基)-2,5-二苯基-2H-四唑溴盐[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide, MTT]细胞增殖和 Lipofectamine 3000,均由上海碧云天生物科技有限公司生产;matrigel 基质胶,美国 Corning 公司生产;兔抗半胱天冬酶-3 (Caspase-3) 抗体、兔抗半胱天冬酶-9 (Caspase-9) 抗体、兔抗 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2-associated X protein, Bax) 抗体、兔抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体、兔抗 IFN- β 抗体、兔抗 RIG-I 抗体和兔抗 MAVS 抗体和山羊抗兔免疫球蛋白 G 重链和轻链 (immunoglobulin G heavy and light chains, IgG H&L),均由美国 Abcam 公司生产;sh-IFN (短发夹 RNA-IFN),江苏苏州 GenePharma 公司合成。

仪器 PowerPac™ Basic Western blot 电泳仪、Mini-PROTEAN® Tetra 垂直电泳槽和 Trans-Blot® SD 转移电泳槽,均为美国伯乐 Bio-Rad 公司产品;JY04S-3E 凝胶成像分析系统,北京君意东方电泳设备有限公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养及 MTT 检测细胞活力^[9-10]

将人乳腺癌细胞系 MCF-7 接种在杜氏改良伊格尔完全培养基中,37 °C 5% 的 CO₂ 培养。观察细胞形态及生长状态,当细胞融合度达 90% 后,进行传代操作,取生长对照期细胞,吸弃原有培养基,对照组用新鲜培养基,实验组使用含药培养基。其中姜黄素药物浓度设置为 0、10、20 和 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,西达本胺药物浓度设置为 0、5、10、20、40 和 60 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用 MTT 法检测姜黄素和西达本胺 24 h 对 MCF-7 细胞的抑制率,细胞分别加入相应姜黄素和西达本胺处理 24 h。随后每孔加入 MTT 溶液 50 μL ,避光孵育 4 h 后,吸弃上清,随后加入 DMSO,37 °C 孵育 30 min,测定 490 nm 处光密度 (optical density, OD) 值。以对照组 (0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素) 存活率为 100% 计算各组细胞抑制率,公式为 $[1 - (\text{OD}_{\text{实验组}} - \text{OD}_{\text{空白组}}) / (\text{OD}_{\text{对照组}} - \text{OD}_{\text{空白组}})] \times 100\%$ 。用 SPSS 23.0 软件计算半数抑制浓

度 (half maximal inhibitory concentration, IC₅₀) 值,并用金氏公式计算姜黄素与西达本胺的协同,作用公式为 $q = E_{(A+B)} / (E_A + E_B - E_A \times E_B)$ 。其中, $E_{(A+B)}$ 表示 2 种药物联合作用时对细胞的抑制率, E_A 和 E_B 分别表示姜黄素与西达本胺单独使用时对细胞的抑制率。判断标准如下: $q > 1.15$ 表示具有协同作用, $0.85 \leq q \leq 1.15$ 表示具有协同作用, $q < 0.85$ 表示具有拮抗作用。

2.2 细胞分组及处理方法

将人乳腺癌细胞系 MCF-7 常规培养,并分为 5 组:空白组 (不加任何药物处理), CUR 组 (20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素处理 24 h)、CHI 组 (10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 西达本胺处理 24 h)、联合组 (20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素和 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 西达本胺处理 24 h) 和抑制剂组 (转染 sh-IFN 并用 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素和 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 西达本胺处理 24 h)。评估药物对 MCF-7 细胞的毒性效应,检测细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡以及对 IFN-RIG-I-MAVS 通路的影响。每组设置 3 个复孔。

2.3 克隆形成实验检测细胞增殖能力^[11]

取生长对数期的 MCF-7 细胞,当细胞融合度超过 90% 时,进行细胞收集并制备成细胞悬液。随后,对细胞悬液进行梯度稀释,并按照每孔 1×10^3 个细胞的密度接种于培养板中。在 37 °C、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养 2 至 3 周。培养结束后,用磷酸盐缓冲溶液 (phosphate-buffered saline, PBS) 溶液清洗细胞,接着加入 4% 多聚甲醛进行室温固定。固定完成后,再次用 PBS 清洗,然后加入 0.1% 结晶紫染色液对细胞进行 10 min 的染色。对各孔的细胞克隆数进行统计,以评估细胞的增殖情况。

2.4 Transwell 实验检测细胞迁移能力^[11]

实验前,先对 Transwell 小室进行预处理,并确保操作在冰上进行。随后,从各处理组中取出细胞,调整细胞浓度为 5×10^4 cells $\cdot \text{mL}^{-1}$,并将此浓度的细胞悬液接种到 Transwell 小室的上层。同时,向下层室中加入含有 20% 胎牛血清的 DMEM 培养基 600 μL 。细胞在无血清条件下培养 48 h,随后使用 4% 多聚甲醛进行室温固定,时长为 30 min。固定完成后,进行洗涤处理,接着用 0.1% 结晶紫染色 15 min。用显微镜观察并计数染色细胞。

2.5 细胞划痕实验检测细胞迁移能力^[11]

以 5×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的密度,将细胞接种于 6 孔板中。随后,在 6 孔板的底部垂直划线,以此作为细胞迁移的起始参照线。经过磷酸盐缓冲盐溶液洗涤后,将细胞置于标准培养条件下进行 24 h 的培养,以便观察其迁移情况。在培养开始 (0 h) 和结束后 (24 h),

分别用显微镜拍摄细胞的迁移图像。通过测量迁移距离量化评估细胞迁移能力。

2.6 蛋白质印迹 (Western blotting, WB) 法检测 Caspase - 3、Caspase - 9、Bax、IFN - β 、RIG - I 和 MAVS 蛋白表达水平^[12]

用裂解液提取细胞总蛋白后,对其进行蛋白定量。并通过 10% 十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳将蛋白样品转移至聚偏二氟乙烯膜。电泳完成后,以 5% 脱脂牛奶室温封闭聚偏二氟乙烯膜 1 h,随后在 4 ℃ 下与特异性抗体 (Caspase - 3 2 000: 1、Caspase - 9 2 000: 1、Bax 1 000: 1、IFN - β 500: 1、RIG - I 1 000: 1、MAVS 2 000: 1) 孵育过夜。次日,室温下与山羊抗兔 IgG H&L 二抗孵育 1 h。用 ECL 试剂与化学发光检测试剂盒进行显影,以 GAPDH 为内参。最终,用 ImageJ 1.8 软件量化分析灰度值。

3 统计学处理

用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析。先用 Shapiro - Wilk 法检验数据正态性,在满足正态分布基础上,进一步用 Levene 检验多组数据的方差齐性。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用独立样本 t 检验。多组数据比较用单因素方差分析 (One - Way ANOVA),若结果有显著差异,进一步用 SNK - q 检验进行多重比较校正后的两两比较。

表 1 姜黄素和西达苯胺 24 h 对 MCF - 7 细胞的抑制率 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Inhibition rate of curcumin and chidamide on MCF - 7 cells for 24 h ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	Inhibitory rates(%)						IC ₅₀ μmol · L ⁻¹
		0 μmol · L ⁻¹	5 μmol · L ⁻¹	10 μmol · L ⁻¹	20 μmol · L ⁻¹	40μmol · L ⁻¹	60 μmol · L ⁻¹	
		CHI	CHI	CHI	CHI	CHI	CHI	
0 μmol · L ⁻¹ CUR	3	0 ± 0	13. 98 ± 1. 68 ^a	29. 52 ± 1. 56 ^b	48. 29 ± 3. 24 ^c	67. 26 ± 2. 41 ^d	74. 85 ± 3. 33 ^e	31. 48 ± 2. 01
10 μmol · L ⁻¹ CUR	3	10. 28 ± 4. 01 [*]	31. 96 ± 4. 16 ^{a*}	44. 82 ± 3. 19 ^{b*}	63. 52 ± 5. 43 ^{c*}	81. 72 ± 2. 23 ^{d*}	90. 11 ± 3. 06 ^{e*}	17. 57 ± 0. 65 [*]
20 μmol · L ⁻¹ CUR	3	26. 31 ± 3. 92 [#]	45. 02 ± 3. 97 ^{a#}	66. 59 ± 3. 39 ^{b#}	74. 85 ± 2. 13 ^{c#}	88. 88 ± 2. 51 ^{d#}	99. 43 ± 3. 72 ^{e#}	7. 56 ± 0. 32 [#]
40 μmol · L ⁻¹ CUR	3	48. 39 ± 4. 15 [△]	67. 56 ± 2. 33 ^{a△}	78. 05 ± 3. 21 ^{b△}	89. 11 ± 4. 10 ^{c△}	99. 26 ± 3. 26 ^{d△}	99. 89 ± 5. 49	0. 21 ± 0. 02 [△]

CUR: Curcumin; CHI: Chidamide; IC₅₀: Half maximal inhibitory concentration; Compared with CHI at 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, ^a $P < 0.05$; Compared with CHI at 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, ^b $P < 0.05$; Compared with CHI at 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, ^c $P < 0.05$; Compared with CHI at 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, ^d $P < 0.05$; Compared with CHI at 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, ^e $P < 0.05$; Compared with CUR at 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, ^{*} $P < 0.05$; Compared with CUR at 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, [#] $P < 0.05$; Compared with CUR at 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, [△] $P < 0.05$.

表 2 用金氏公式计算姜黄素与西达苯胺的协同作用

Table 2 The synergistic effect of curcumin and chidamide was calculated by Jin's formula

Group	<i>n</i>	<i>q</i>				
		5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI	10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI	20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI	40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI	60 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CHI
0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR	3	—	—	—	—	—
10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR	3	1.35	1.19	1.18	1.16	1.17
20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR	3	1.23	1.36	1.20	1.17	1.22
40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CUR	3	1.22	1.23	1.21	1.19	1.16

结 果

1 姜黄素提高乳腺癌细胞对西达苯胺的敏感性

MTT 结果显示,姜黄素和西达苯胺对 MCF - 7 细胞的抑制作用与剂量呈正相关 (均 $P < 0.05$);与单独使用西达苯胺相比,姜黄素和西达苯胺 2 药联用可以显著抑制 MCF - 7 细胞的活力 (均 $P < 0.05$),且在不同剂量的姜黄素存在下,西达苯胺的 IC₅₀ 均显著降低 (均 $P < 0.05$),提示姜黄素可以显著增强 MCF - 7 对西达苯胺的敏感性,见表 1。进一步进行金氏公式测算,结果显示,各组 q 值均大于 1.15,见表 2。在 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 西达苯胺和 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素浓度组合时, q 值最大,抑癌效果最佳,因此选择该组合进行后续研究。

2 姜黄素和西达苯胺对乳腺癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响

与空白组相比,CUR 组和 CHI 组的细胞克隆数、穿膜细胞数和划痕修复率均显著降低 (均 $P < 0.05$);与 CUR 组和 CHI 组相比,联合组的细胞克隆数、穿膜细胞数和划痕修复率均显著降低 (均 $P < 0.05$);但 CUR 组和 CHI 组在统计学上差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$),见表 3。

3 姜黄素和西达苯胺对乳腺癌细胞凋亡的影响

空白组、CUR 组、CHI 组、联合组和抑制剂组的细胞凋亡率分别为 (2.21 ± 0.16)、(12.03 ± 0.85)、(12.89 ± 0.99)、(31.62 ± 2.98) 和 (16.85 ± 1.04), 与空白组相比, CUR 组和 CHI 组细胞凋亡率显著增加 ($P < 0.05$); 与 CUR 组和 CHI 组相比, 联合组细胞凋亡率显著增加 ($P < 0.05$); 与联合组相比, 抑制剂组细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$), 见图 1。

4 姜黄素和西达苯胺对乳腺癌细胞凋亡相关蛋白表达的影响

与空白组相比, CUR 组和 CHI 组的 Caspase - 3、Caspase - 9 和 Bax 相对表达水平均显著增加 (均 $P < 0.05$); 与 CUR 组和 CHI 组相比, 联合组的

Caspase - 3、Caspase - 9 和 Bax 相对表达水平均显著增加 (均 $P < 0.05$); 与联合组相比, 抑制剂组 Caspase - 3、Caspase - 9 和 Bax 相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.05$), 见表 4 和图 2。

5 姜黄素和西达苯胺对乳腺癌细胞 IFN - RIG - I - MAVS 通路的影响

与空白组相比, CUR 组和 CHI 组的 IFN - β 、RIG - I 和 MAVS 蛋白相对表达水平均显著增加 (均 $P < 0.05$); 与 CUR 组和 CHI 组相比, 联合组的 IFN - β 、RIG - I 和 MAVS 蛋白相对表达水平均显著增加 (均 $P < 0.05$); 与联合组相比, 抑制剂组的 IFN - β 、RIG - I 和 MAVS 蛋白相对表达水平均显著降低, 见表 5 和图 3。

表 3 各组细胞的克隆形成数、穿膜细胞数和划痕修复率的结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The results of the number of clone formation, the number of transmembrane cells and the rate of scratch repair in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Number of cell clones (cells)	Number of transmembrane cells (cells)	Rate of scratch (%)
Control	3	201.28 ± 23.96	115.03 ± 13.05	51.29 ± 5.17
CUR	3	113.43 ± 15.59 *	86.51 ± 9.13 *	32.80 ± 2.94 *
CHI	3	109.93 ± 11.64 *	77.82 ± 6.68 *	31.23 ± 3.10 *
Combination	3	59.57 ± 6.91 * # Δ	39.54 ± 5.43 * # Δ	16.07 ± 2.11 * # Δ
Inhibitor	3	87.43 ± 5.04 ∇	68.92 ± 3.95 ∇	26.94 ± 1.95 ∇

Control group: No drug treatment administered; CUR group: Treated with 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ curcumin for 24 h; CHI group: Treated with 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ chidamide for 24 h; CUR + CHI group: Treated with 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ curcumin and 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ chidamide for 24 h; CUR + CHI + sh - IFN group: Transfection with sh - IFN followed by treatment with 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ curcumin and 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ chidamide for 24 h; Compared with the control group, * $P < 0.05$; Compared with the CUR group, # $P < 0.05$; Compared with the CHI group, Δ $P < 0.05$; Compared with the combination group, ∇ $P < 0.05$.

表 4 各组细胞凋亡相关蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of apoptosis - related protein expression in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Caspase - 3	Caspase - 9	Bax
Control	3	0.38 ± 0.03	0.33 ± 0.02	0.34 ± 0.03
CUR	3	0.55 ± 0.03 *	0.53 ± 0.02 *	0.52 ± 0.03 *
CHI	3	0.52 ± 0.04 *	0.55 ± 0.04 *	0.53 ± 0.03 *
Combination	3	1.12 ± 0.07 * # Δ	1.05 ± 0.06 * # Δ	1.08 ± 0.07 * # Δ
Inhibitor	3	0.97 ± 0.05 ∇	0.60 ± 0.05 ∇	0.69 ± 0.06 ∇

Bax: Bcl - 2 - associated X protein; Compared with the control group, * $P < 0.05$; Compared with the CUR group, # $P < 0.05$; Compared with the CHI group, Δ $P < 0.05$; Compared with the combination group, ∇ $P < 0.05$.

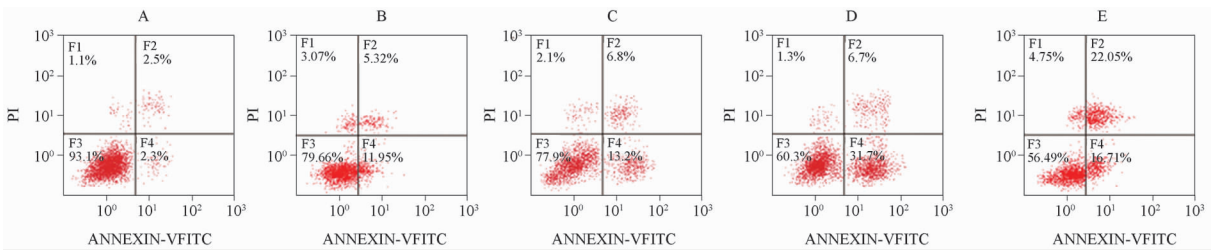


图 1 各组细胞凋亡率的比较

Figure 1 Comparison of apoptosis rate in each group

A: Control group; B: CUR group; C: CHI group; D: Combination; E: Inhibitor group.

表5 各组细胞干扰素-视黄酸诱导基因I-线粒体抗病毒信号蛋白(IFN-RIG-I-MAVS)通路相关蛋白表达的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of interferon-retinoic acid-inducible gene I-mitochondrial antiviral signaling protein(IFN-RIG-I-MAVS) pathway-related protein expression in each group of cells($\bar{x} \pm s$)

Group	n	IFN	RIG-I	MAVS
Control	3	0.33 ± 0.03	0.32 ± 0.02	0.34 ± 0.02
CUR	3	0.46 ± 0.04 *	0.57 ± 0.05 *	0.41 ± 0.03 *
CHI	3	0.53 ± 0.04 *	0.65 ± 0.04 *	0.49 ± 0.04 *
Combination	3	1.09 ± 0.10 *#△	1.02 ± 0.11 *#△	1.04 ± 0.12 *#△
Inhibitor	3	0.45 ± 0.03 ▽	0.59 ± 0.05 ▽	0.51 ± 0.04 ▽

Compared with the control group, * $P < 0.05$; Compared with the CUR group, # $P < 0.05$; Compared with the CHI group, △ $P < 0.05$; Compared with the combination group, ▽ $P < 0.05$.

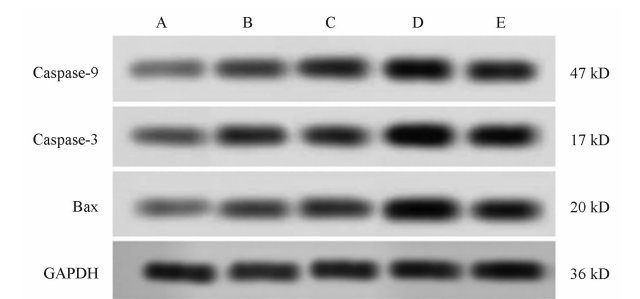


图2 蛋白质印迹法检测凋亡相关蛋白表达水平

Figure 2 The relative expression levels of apoptosis-related proteins detected by Western blot

A: Control group; B: CUR group; C: CHI group; D: Combination group; E: Inhibitor group.

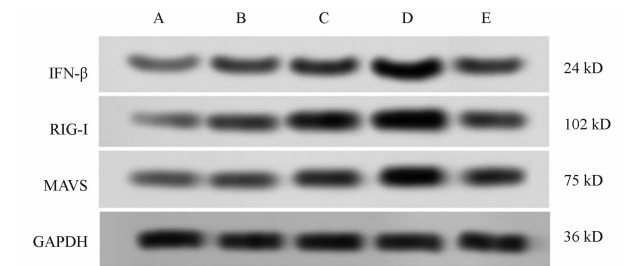


图3 蛋白质印迹法检测IFN-RIG-I-MAVS通路相关蛋白表达水平

Figure 3 The relative expression levels of IFN-RIG-I-MAVS pathway-related proteins detected by Western blot

A: Control group; B: CUR group; C: CHI group; D: Combination group; E: Inhibitor group.

讨论

BC是1种具有高度异质性、进展快速且肿瘤微环境动态变化的复杂疾病。临床与基因组研究证实,乳腺癌肿瘤内存在复杂的克隆结构,尤其在治疗压力下,易于产生耐药性,导致化疗失败和肿瘤复发^[13]。尽管CHI是乳腺癌治疗中不可或缺的化疗药物,但肿瘤

细胞仍可能随时间发展出耐药性,最终导致化疗失败和肿瘤复发。因此,为了克服单药治疗的局限性,临床常采用多药联合方式,以增强药物敏感性,提高治疗效果^[14]。天然产物多年来一直被用作药物的重要来源。CUR为1种从姜黄中提取的天然多酚,已被广泛研究证实具有抗炎、抗氧化和抗肿瘤等多种生物活性^[15]。在BC中,姜黄素可以通过多种途径发挥抗癌作用。例如,研究发现,CUR能够通过刺猬信号通路/Gli1转录因子信号通路抑制三阴性乳腺癌的侵袭转移^[11];也可以通过趋化因子配体12/CXC趋化因子受体4轴破坏乳腺肿瘤微环境中ADMSCs和BC细胞之间的正反馈回路,抑制癌细胞的转移^[16]。另一项研究也报道,CUR可以通过诱导铁死亡显著抑制BC肿瘤生长^[17]。此外,研究显示,姜黄素能够与多种化疗药物联合使用^[18],以提高药物敏感性。然而,其与CHI的联合效应及机制尚未完全阐明。本研究旨在探讨姜黄素是否能够增强BC细胞对CHI的敏感性,并初步探索其潜在机制。实验显示,CUR能够显著降低MCF-7细胞对CHI的IC₅₀,并协同增强CHI对细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。在促凋亡方面,联合用药显著上调了凋亡关键蛋白Bax、Caspase-9和Caspase-3的表达^[19],其效果优于单药处理,表明CUR能显著提高BC细胞对CHI的敏感性,增强其抗增殖转移,促凋亡作用。

RIG-I作为1种关键的先天免疫传感器,通过激活肿瘤微环境中IFN-I相关免疫细胞,在癌症免疫治疗中发挥着重要作用^[20-21]。机制上,RIG-I可以通过促进MAVS在线粒体上聚合,进而招募下游接头,激活IRF3和核因子κB转录因子,触发IFN和促炎细胞因子的产生,激活先天免疫细胞和CD8⁺T细胞,增强抗肿瘤免疫应答,提高免疫检查点阻断的敏感性。而破坏RIG-I-MAVS复合物形成会抑制IFN信号通路及抗肿瘤免疫,进而促进雌激素受体阳性BC细胞耐药性的产生^[22]。基于上述报道,本研究

认为,IFN - RIG - I - MAVS 轴可能是治疗耐药 BC 的潜在靶点通路。本研究显示,无论是 CUR 还是 CHI 单药处理,均可以上调 MCF - 7 细胞中 IFN - β 、RIG - I 和 MAVS 的蛋白表达,而联合用药的激活效应更为显著。为进一步验证该通路的必要性,研究在联合用药的同时干扰了 IFN - β 的表达。结果表明,下调 IFN - β 可以显著削弱联合治疗方案对癌细胞的毒性作用,并减弱其对细胞增殖、迁移、侵袭的抑制及促凋亡效应。这提示,激活 IFN - RIG - I - MAVS 通路可能是 CUR 增敏 CHI 抗 BC 作用的重要机制之一。

本研究提示:CUR 能够增强 BC 细胞对 CHI 的敏感性,2 者在抑制细胞恶性行为及诱导凋亡方面表现出协同效应,其机制可能与激活细胞内 IFN - RIG - I - MAVS 信号通路有关。

参考文献:

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229—263.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al.* Cancer statistics, 2021 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7—33.
- [3] PRZANOWSKI P, LOU S, TIHAGAM R D, *et al.* Oncogenic TRIM37 links chemoresistance and metastatic fate in triple - negative breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2020, 80(21): 4791—804.
- [4] HU Z, WEI F, SU Y, *et al.* Histone deacetylase inhibitors promote breast cancer metastasis by elevating NEDD9 expression [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 11.
- [5] CAO L, ZHAO S, YANG Q, *et al.* Chidamide combined with doxorubicin induced p53 - driven cell cycle arrest and cell apoptosis reverse multidrug resistance of breast cancer [J/OL]. *Front Oncol*, 2021, 11: 614458. 2021 - 03 - 02 [2025 - 10 - 31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33738256/>.
- [6] DAI L, ZHANG C, GAO W, *et al.* Molecular, biological characterization and drug sensitivity of chidamide - resistant MCF7 cells [J]. *Transl Cancer Res*, 2024, 13(5): 2372—2386.
- [7] FARGHADANI R, NAIDU R. Curcumin as an enhancer of therapeutic efficiency of chemotherapy drugs in breast cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4): 2144.
- [8] ZHANG W, WANG G, XU Z G, *et al.* Lactate is a natural suppressor of RLR signaling by targeting MAVS [J/OL]. *Cell*, 2019, 178(1): 176—189. e115. 2019 - 03 - 30 [2025 - 10 - 31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31155231/>.
- [9] 阮涛,吴莉,刘岐焕,等. 吉西他滨联合卡铂诱导 NK/T 细胞淋巴瘤细胞株凋亡的研究[J]. 临床医药实践, 2021, 30(4): 243—249.
- [10] 王秀,季麒麟,裴文俊,等. 3 - 溴丙酮酸 - 胆固醇酯增强乳腺癌细胞对他莫昔芬敏感性研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2023, 28(10): 1093—1100.
- [11] LI M, GUO T, LIN J, *et al.* Curcumin inhibits the invasion and metastasis of triple negative breast cancer *via* Hedgehog/Gli1 signaling pathway [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 283: 114689. 2021 - 09 - 28 [2025 - 10 - 31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34592340/>.
- [12] ARELLANO - RODRÍGUEZ N C, ALVAREZ - QUEZADA O A, BENAVIDES P Z, *et al.* Curcumin ensitizes 4t1 murine breast cancer cells to cisplatin through par4 secretion [J]. *In Vivo*, 2022, 36(6): 2767—2773.
- [13] FERRARI P, SCATENA C, GHILLI M, *et al.* Molecular mechanisms, biomarkers and emerging therapies for chemotherapy resistant tnbc [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1665.
- [14] TURAJLIC S, SOTTORIVA A, GRAHAM T, *et al.* Resolving genetic heterogeneity in cancer [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(7): 404—416.
- [15] CHEN Z, LU P, LI M, *et al.* Curcumin suppresses metastasis of triple - negative breast cancer cells by modulating EMT signaling pathways: An integrated study of bioinformatics analysis [J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2024, 103(8): e37264. 2024 - 02 - 23 [2025 - 10 - 31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38394486/>.
- [16] JANG B Y, SHIN M K, HAN D H, *et al.* Curcumin disrupts a positive feedback loop between ADMSCs and cancer cells in the breast tumor microenvironment *via* the CXCL12/CXCR4 axis [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(11): 2627.
- [17] CAO X, LI Y, WANG Y, *et al.* Curcumin suppresses tumorigenesis by ferroptosis in breast cancer [J/OL]. *PLoS One*, 2022, 17(1): e0261370. 2024 - 02 - 23 [2025 - 10 - 31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35041678/>.
- [18] SHARMA T, SINGH D, MAHAPATRA A, *et al.* Advancements in clinical translation of flavonoid nanoparticles for cancer treatment [J/OL]. *OpenNano*, 2022, 8: 100074. 2022 - 08 - 28 [2025 - 10 - 31]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352952022000366>.
- [19] LI Y, WANG Y, YU X, *et al.* Radix tetrastigma inhibits the non - small cell lung cancer *via* Bax/Bcl - 2/Caspase - 9/Caspase - 3 pathway [J]. *Nutr Cancer*, 2022, 74(1): 320—332.
- [20] XIE Q, CHU Y, YUAN W, *et al.* Activation of insulin - like growth factor - 1 receptor (IGF - 1R) promotes growth of colorectal cancer through triggering the MEX3A - mediated degradation of RIG - I [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13(7): 2963—2975.
- [21] THORESEN D, WANG W, GALLS D, *et al.* The molecular mechanism of RIG - I activation and signaling [J]. *Immunol Rev*, 2021, 304(1): 154—168.
- [22] YI J, WANG L, HU G S, *et al.* *circPVT1* promotes ER - positive breast tumorigenesis and drug resistance by targeting ESR1 and MAVS [J/OL]. *Embo j*, 2023, 42(10): e112408. 2023 - 03 - 15 [2025 - 10 - 31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37009655/>.

(本文编辑:王珊 收稿日期 2025 - 11 - 27)