

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research去氧地胆草素调控非小细胞肺癌进展的
机制研究Study on the mechanism of deoxyelephantopin regulating the progression of
non-small cell lung carcinoma席彩霞, 陶文学, 刘雪梅,
张文静, 张海慧, 张文博(甘肃省武威肿瘤医院 呼吸与危重症医学二科,
甘肃 武威 733000)XI Cai-xia, TAO Wen-xue,
LIU Xue-mei, ZHANG Wen-jing,
ZHANG Hai-hui, ZHANG Wen-bo(Second Department of Respiratory and
Critical Care Medicine, Gansu Wuwei
Cancer Hospital, Wuwei 733000, Gansu
Province China)基金项目:武威市市级科技计划自筹经费基金
资助项目(WW23B02SF038)作者简介:席彩霞(1978-),女,硕士,主任医师,
主要从事肺部肿瘤方面的临床诊
疗工作

通信作者:席彩霞

MP:18793598580

E-mail:18793598580@163.com

摘要:目的 探讨去氧地胆草素对非小细胞肺癌(NSCLC)的抑制作用及其潜在作用机制。方法 将人肺腺癌 H1975 细胞随机分为对照组(常规培养)、低剂量实验组($1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 去氧地胆草素)、中剂量实验组($2.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 去氧地胆草素)、高剂量实验组($5.20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 去氧地胆草素)、Vector 组(转染 Vector 质粒 + $5.20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 去氧地胆草素)、EGFR 组(转染过表达 EGFR 质粒 + $5.20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 去氧地胆草素)。用 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)实验检测细胞增殖情况,用原位末端转移酶标记法(Tunel)、流式细胞术实验检测细胞凋亡情况,用蛋白质印迹法实验检测相关蛋白的表达水平,用 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭情况。结果 对照组和低、中、高剂量实验组细胞增殖率分别为 $(40.64 \pm 2.70)\%$ 、 $(29.78 \pm 3.28)\%$ 、 $(23.59 \pm 1.98)\%$ 和 $(15.72 \pm 1.01)\%$, Tunel 阳性细胞率分别为 $(4.63 \pm 0.57)\%$ 、 $(10.18 \pm 0.88)\%$ 、 $(15.96 \pm 0.79)\%$ 和 $(24.73 \pm 3.70)\%$, 磷酸化表皮生长因子受体(p-EGFR)蛋白相对表达水平分别为 0.87 ± 0.10 、 0.60 ± 0.05 、 0.49 ± 0.04 和 0.33 ± 0.04 , 低、中、高剂量实验组的上述指标分别与对照组比较,低、中、高剂量组组间比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。对照组、高剂量实验组、Vector 组和 EGFR 组的 p-EGFR/EGFR 蛋白相对表达水平分别为 0.76 ± 0.10 、 0.49 ± 0.07 、 0.47 ± 0.05 和 0.71 ± 0.10 , 细胞凋亡率分别为 $(4.11 \pm 0.39)\%$ 、 $(26.33 \pm 2.29)\%$ 、 $(25.40 \pm 1.58)\%$ 和 $(12.68 \pm 1.73)\%$, 迁移细胞数分别为 (147.78 ± 12.69) 、 (87.11 ± 9.65) 、 (93.89 ± 9.67) 和 (124.00 ± 14.10) 个;高剂量实验组的上述指标与对照组比较,EGFR 组的上述指标与 Vector 组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 去氧地胆草素可通过降解 EGFR,抑制相关信号通路,抑制肺癌细胞增殖和转移,并诱导凋亡。

关键词:去氧地胆草素;非小细胞肺癌;表皮生长因子受体;增殖;凋亡;转移

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.04.006

中图分类号:R28 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)04-0477-05

Abstract: Objective To investigate the inhibitory effect of deoxyelephantopin on non-small cell lung cancer (NSCLC) and its potential mechanism. **Methods** Human lung adenocarcinoma H1975 cells were randomly divided into control group (routine culture), experimental - L group ($1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ deoxyelephantopin), experimental - M group ($2.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ deoxyelephantopin), experimental - H group ($5.20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ deoxyelephantopin), Vector group (transfected Vector plasmid + $5.20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ deoxyelephantopin), epidermal growth factor receptor (EGFR) group (transfected with EGFR plasmid + $5.20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ deoxyelephantopin).

5-ethynyl-2'-deoxyuridine(EdU) assay was used to detect cell proliferation; cell apoptosis were detected by TdT mediated dUDP nick end labeling (Tunel) and flow cytometry; Western blot assay was used to detect the proteins expression; and Transwell assay was used to detect cell migration and invasion. **Results** The proliferation rates of cells in the control group and experimental - L, - M, - H groups were $(40.64 \pm 2.70)\%$, $(29.78 \pm 3.28)\%$, $(23.59 \pm 1.98)\%$ and $(15.72 \pm 1.01)\%$, respectively; the rates of TUNEL-positive cells were $(4.63 \pm 0.57)\%$, $(10.18 \pm 0.88)\%$, $(15.96 \pm 0.79)\%$ and $(24.73 \pm 3.70)\%$, respectively; the relative expression levels of phosphorylated epidermal growth factor receptor (p-EGFR) protein were 0.87 ± 0.10 , 0.60 ± 0.05 , 0.49 ± 0.04 and 0.33 ± 0.04 , respectively. Comparisons between the experimental - L, - M, - H groups and the control group, as well as comparisons among the experimental - L, - M, - H groups, revealed statistically significant differences (all $P < 0.05$). The relative expression levels of p-EGFR/EGFR protein in the control group, experimental - H group, Vector group, and EGFR group were 0.76 ± 0.10 , 0.49 ± 0.07 , 0.47 ± 0.05 and 0.71 ± 0.10 , respectively; apoptosis rates were $(4.11 \pm 0.39)\%$, $(26.33 \pm 2.29)\%$, $(25.40 \pm 1.58)\%$ and $(12.68 \pm 1.73)\%$, respectively; the number of migrating cells was 147.78 ± 12.69 , 87.11 ± 9.65 , 93.89 ± 9.67 and 124.00 ± 14.10 , respectively. Statistical analysis showed significant differences in the above indices between the experimental - H group and the control group, as well as between the EGFR group and the Vector group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Deoxyelephantopin can degrade EGFR, inhibit related signaling pathways, inhibit proliferation and metastasis of lung cancer cells, and induce apoptosis.

Key words: deoxyelephantopin; non-small cell lung cancer; epidermal growth factor receptor; proliferation; apoptosis; transfer

肺癌是癌症相关死亡的最常见原因,表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是一种具有细胞质激酶活性的跨膜蛋白,可将重要的生长因子信号从细胞外环境传导至细胞,60%以上的非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)表达EGFR^[1]。然而,几乎所有的EGFR突变阳性患者在接受EGFR抑制药治疗的一年内产生耐药^[2]。近年来,中医药在NSCLC的辅助治疗中具有积极作用^[3],去氧地胆草素是一种从地胆草中提取而来的倍半萜内酯类化合物,其在大细胞肺癌中具有显著的抑癌作用^[4]。本研究旨在探究去氧地胆草素抑制肺癌进展的潜在作用机制。

材料与方法

1 材料

细胞 人肺腺癌 H1975 细胞,购自美国 ATCC 公司。

药品与试剂 去氧地胆草素,纯度:99%,规格:每支 10 mg,批号:20240221,成都仪睿生物科技有限公司。pcDNA-Vector 质粒、pcDNA-EGFR 质粒、引物合成,均购自上海吉玛生物有限公司;细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8),购自西安百萤生物科技有限公司;5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(5-ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)增殖试剂盒、原

位末端转移酶标记法(TdT mediated dUDP nick end labeling, Tunel)凋亡试剂盒,均购自上海碧云天生物公司;Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒,温州科森生物科技有限公司;兔抗磷酸化(phosphorylation, p)-EGFR、EGFR、磷酸化细胞外信号调节激酶(phosphorylated extracellular signal-regulated kinase, p-ERK)、ERK、磷酸化-信号转导与转录激活因子 3 (phosphorylation-signal transduction and activator of transcription 3, p-STAT3)、STAT3、cleaved 多聚 ADP 核糖聚合酶(cleaved poly ADP ribose polymerase, cl-PARP),均购自英国 Abcam 公司;兔抗 cleaved 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9 (cleaved cysteine aspartic protease-9, cl-caspase-9)、HRP 羊抗兔二抗,均购自美国 CST 公司;cDNA 链合成试剂盒,购自上海烜雅生物科技有限公司。

仪器 EnVision 酶标仪,芬兰瑞孚迪公司产品;DMi8-S 荧光显微镜,德国徕卡公司产品;CytoFLEX 流式细胞仪,美国贝克曼库尔特公司产品;StepOne TM 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)仪,美国 ABI 公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养^[5]

将 H1975 细胞培养在 RPMI1640 培养基(10%胎

牛血清)中,并置于培养箱中培养(5% CO₂),细胞融合至80%时进行消化传代。

2.2 细胞转染^[6]

将细胞接种在培养皿中,当细胞融合至80%时,将培养基更换为无血清培养基,然后用无血清培养基配制转染混合物(Lipofectamine 2000),并加入细胞培养皿中,混匀(十字交叉法),在培养箱中(37℃)孵育24 h后进行后续实验。

2.3 细胞分组与处置方法

将H1975细胞随机分为对照组、低剂量实验组、中剂量实验组、高剂量实验组、Vector组、EGFR组。对照组细胞不做处理,分别用1.00、2.00和5.20 μmol·L⁻¹的去氧地胆草素处理低、中、高剂量实验组细胞24 h,将pcDNA-Vector质粒转染至Vector组细胞,24 h后再用5.20 μmol·L⁻¹的去氧地胆草素继续处理细胞24 h,将pcDNA-EGFR质粒转染至EGFR组细胞,24 h后用5.20 μmol·L⁻¹的去氧地胆草素继续处理24 h。

2.4 CCK-8 实验检测存活率^[6]

调整H1975细胞密度并接种在96孔板中,给药处理后每孔加入CCK-8试剂10 μL,在培养箱中培养2 h,用酶标仪检测各孔的光密度值(450 nm),计算细胞存活率。

2.5 EdU 法检测细胞增殖^[7]

收集各组细胞,接种6孔板中(每孔1×10⁵个细胞),EdU试剂100 μL对细胞孵育2 h(培养箱),磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)清洗后加入4%多聚甲醛50 μL固定30 min, PBS清洗后用通透液(0.5% Triton X-100)100 μL室温下孵育20 min,清洗后加入染色反应液室温避光孵育30 min,最后用4',6-二氨基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)试剂对细胞核染色(100 μL, 10 min),在荧光显微镜下观察各组细胞增殖情况。

2.6 TUNEL 实验检测细胞凋亡^[8]

取各组细胞,接种于6孔板中(每孔1×10⁵个细胞),PBS清洗后用多聚甲醛固定(20 min),清洗后加入细胞通透液(0.5% Triton X-100)室温条件下孵育20 min, PBS清洗后加入TUNEL反应液培养箱中孵育2 h,清洗后用DAPI试剂对细胞核染色10 min,最后用荧光显微镜观察各组细胞凋亡情况。

2.7 流式细胞术检测细胞凋亡^[7]

将细胞接种于6孔板中(每孔5×10⁴个细胞),分组处理结束后消化收集细胞,用Binding buffer重悬细胞,加入Annexin V-FITC 5 μL、PI试剂5 μL,室温下

孵育15 min,用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.8 蛋白质印迹实验检测相关蛋白的表达^[6]

细胞裂解液裂解各组细胞后离心收集总蛋白测定蛋白浓度,进行电泳分离蛋白,转膜并进行封闭,滴加一抗稀释液,在摇床上孵育过夜(4℃),次日将膜与对应种属的二抗试剂孵育1 h,然后用化学发光液显色后曝光、收集图像,进行灰度值分析。

2.9 RT-qPCR 实验检测 EGFR mRNA 相对表达水平^[6]

提取各组细胞总RNA(Trizol法,紫外分光光度计检测总RNA浓度),将总RNA逆转为cDNA,然后配制反应体系进行RT-qPCR(反应程序:95℃ 10 min, 95℃ 15 s, 60℃ 30 s, 72℃ 20 s, 40循环),结束后根据2^{-ΔΔCt}法计算EGFR mRNA相对表达水平(β-actin为内参)。

2.10 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭^[9]

侵袭实验:Transwell小室中放24孔板,将基质胶铺在Transwell的上室,晾干后加入细胞悬液,并在下室加入500 μL的细胞培养基,培养48 h收集下室细胞(弃原培养基),多聚甲醛固定,结晶紫染色后用显微镜观察。迁移实验:上室不需铺基质胶,其余实验步骤同侵袭实验。

3 统计学处理

用SPSS 25软件进行统计分析。计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间比较用独立样本t检验,多组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 去氧地胆草素对 H1975 细胞存活的影响

用浓度为0、0.125、0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、16.00、32.00、64.00 μmol·L⁻¹的去氧地胆草素处理细胞24 h,细胞存活率分别为(100.00±3.20)%、(99.69±8.29)%、(97.97±7.68)%、(94.49±6.09)%、(81.31±8.94)%、(63.93±2.97)%、(49.97±5.76)%、(35.91±1.58)%、(30.74±2.42)%、(27.48±3.78)%、(25.84±2.71)%;除0.125、0.25 μmol·L⁻¹组外,其余浓度组细胞存活率较0 μmol·L⁻¹组均显著降低(均P<0.05),去氧地胆草素对H1975细胞的半数最大抑制浓度为5.20 μmol·L⁻¹,因此后续实验分别选择1.00、2.00和5.20 μmol·L⁻¹为去氧地胆草素的低、中、高剂量实验组浓度。

2 去氧地胆草素对 H1975 细胞增殖和凋亡的影响

对照组细胞不做处理;低、中、高剂量实验组细胞组

分别用 1.00、2.00 和 5.20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 去氧地胆草素处理细胞 24 h; Vector 组细胞转染 pcDNA - Vector 质粒, 24 h 后再用 5.20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的去氧地胆草素继续处理细胞 24 h; EGFR 组细胞转染 pcDNA - EGFR 质粒, 24 h 后用 5.20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的去氧地胆草素继续处理 24 h。

低、中、高剂量实验组细胞的 EdU 增殖率较对照组均显著降低, 细胞凋亡率均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$); 低、中、高剂量实验组组间比较, 增殖率和凋亡率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 1。

3 去氧地胆草素对 H1975 细胞 EGFR 降解的影响

低、中、高剂量实验组细胞的 p - EGFR 蛋白相对表达水平、EGFR 蛋白和 mRNA 相对表达水平均较对照组显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$); 低、中、高剂量实验组组间比较, p - EGFR 蛋白相对表达水平、EGFR 蛋白和 mRNA 相对表达水平差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 2。

4 去氧地胆草素对 EGFR 相关信号通路的影响

高剂量实验组细胞 p - EGFR/EGFR、p - ERK/ERK、p - STAT3/STAT3A 蛋白相对表达均较对照组显著降低, cl - PARP 和 cl - caspase - 9 蛋白相对表达均显著升高 (均 $P < 0.001$); EGFR 组细胞的 p - EGFR/EGFR、p - ERK/ERK、p - STAT3/STAT3A 蛋白相对表达较 Vector 组均显著升高, cl - PARP 和 cl - caspase - 9 蛋白相对表达水平均显著下降 ($P < 0.01$, $P < 0.001$), 见表 3。

5 去氧地胆草素增强 EGFR 降解对 H1975 细胞凋亡、迁移和侵袭的影响

对照组、高剂量实验组、Vector 组和 EGFR 组细胞的凋亡率分别为 $(4.11 \pm 0.39)\%$ 、 $(26.33 \pm 2.29)\%$ 、 $(25.40 \pm 1.58)\%$ 和 $(12.68 \pm 1.73)\%$, 迁移细胞数分别为 (147.78 ± 12.69) 、 (87.11 ± 9.65) 、 (93.89 ± 9.67) 和 (124.00 ± 14.10) 个, 侵袭细胞数分别为 (110.33 ± 6.06) 、 (49.33 ± 5.16) 、 (48.00 ± 4.71) 和

表 1 各组细胞增殖、凋亡相关指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of related indexes of cell proliferation and apoptosis in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	n	EdU positive cell rate (%)	Tunel positive cell rate (%)	Apoptosis rate (%)
Control	-	9	40.64 $\pm$ 2.70	4.63 $\pm$ 0.57	4.56 $\pm$ 0.34
Experimental - L	1.00	9	29.78 $\pm$ 3.28 *	10.18 $\pm$ 0.88 *	11.14 $\pm$ 0.96 **
Experimental - M	2.00	9	23.59 $\pm$ 1.98 ***	15.96 $\pm$ 0.79 ***	16.34 $\pm$ 0.84 ***
Experimental - H	5.20	9	15.72 $\pm$ 1.01 *** $\Delta\Delta$	24.73 $\pm$ 3.70 *** $\Delta\Delta$	25.45 $\pm$ 2.51 *** $\Delta\Delta$

Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; Compared with experimental - L group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; Compared with experimental - M group, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; Edu: 5 - ethynyl - 2' - deoxyuridine; Tunel: TdT mediated dUDP nick end labeling.

表 2 表皮生长因子受体(EGFR)蛋白和 mRNA 表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of epidermal growth factor receptor(EGFR) protein and mRNA expression levels in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	p - EGFR protein	EGFR protein	EGFR mRNA
Control	0.87 $\pm$ 0.10	1.22 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.05
Experimental - L	0.60 $\pm$ 0.05 *	0.90 $\pm$ 0.08 *	0.76 $\pm$ 0.05 *
Experimental - M	0.49 $\pm$ 0.04 ***	0.83 $\pm$ 0.05 ***	0.61 $\pm$ 0.06 ***
Experimental - H	0.33 $\pm$ 0.04 *** $\Delta\Delta$	0.69 $\pm$ 0.03 *** $\Delta\Delta$	0.44 $\pm$ 0.07 *** $\Delta\Delta$

Dose and n refer to table 1; Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; Compared with Experimental - L group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; Compared with Experimental - M group, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$.

表 3 各组细胞 EGFR 下游信号通路相关蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of protein expression of EGFR downstream signaling pathway in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	p - EGFR/EGFR	p - ERK/ERK	p - STAT3/STAT3A	cl - PARP	cl - caspase - 9
Control	9	0.76 $\pm$ 0.10	0.86 $\pm$ 0.12	0.92 $\pm$ 0.14	0.28 $\pm$ 0.06	0.40 $\pm$ 0.05
Experimental - H	9	0.49 $\pm$ 0.07 ***	0.44 $\pm$ 0.06 ***	0.46 $\pm$ 0.10 ***	0.75 $\pm$ 0.05 ***	1.07 $\pm$ 0.12 ***
Vector	9	0.47 $\pm$ 0.05	0.41 $\pm$ 0.06	0.49 $\pm$ 0.13	0.76 $\pm$ 0.06	1.06 $\pm$ 0.12
EGFR	9	0.71 $\pm$ 0.10###	0.68 $\pm$ 0.08##	0.87 $\pm$ 0.13###	0.46 $\pm$ 0.04###	0.66 $\pm$ 0.10###

Compared with control group, *** $P < 0.001$; Compared with Vector group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$; Vector group: Transfected Vector plasmid + 5.20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ deoxyelephantopin; EGFR group: Transfected EGFR plasmid + 5.20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ deoxyelephantopin; p - EGFR: Phosphorylated - epidermal growth factor receptor; p - ERK: Phosphorylated - extracellular signal - regulated kinases; p - ERK; p - STAT3: Phosphorylation - signal transduction and activator of transcription 3; cl - PARP: Cleaved poly ADP ribose polymerase; cl - caspase - 9: Cleaved cysteine aspartic protease - 9.

(76.56 ± 9.84) 个,高剂量实验组细胞的凋亡率较对照组显著升高,细胞迁移和侵袭数均显著下降(均 $P < 0.001$);EGFR 组细胞的凋亡率较 Vector 组显著下降,细胞迁移和侵袭数均显著升高(均 $P < 0.001$)。

讨 论

天然产物对肿瘤的治疗作用已被世界认可。地胆草是一种多年生的天然中草药,去氧地胆草素又名去氧地胆草内脂,是从地胆草中提取而来,具有广谱抗肿瘤效果^[10]。研究发现,去氧地胆草素在包括大细胞肺癌在内的多种肿瘤中均具有抑瘤作用^[4,11],但其在抗 NSCLC 中的潜在作用机制仍不清楚。在本研究中用不同浓度的去氧地胆草素处理 H1975 细胞后发现,细胞存活率随着去氧地胆草素剂量的增加不断降低,同时还观察到去氧地胆草素可呈剂量依赖性降低 H1975 细胞增殖率,且 Tunel 和流式细胞术实验均发现 H1975 细胞的凋亡率随着去氧地胆草素浓度的增加逐渐明显增加,这提示去氧地胆草素可在体外抑制 NSCLC 细胞增殖,并诱导其凋亡发挥抑癌作用。

EGFR 可通过调控多个通路激活下游信号,导致癌细胞增殖、分化和迁移,靶向治疗 EGFR 的激活突变是作为 EGFR 激活突变的晚期 NSCLC 患者的一线治疗策略^[12-13]。本研究进一步探究去氧地胆草素体外抑癌潜在机制,发现经去氧地胆草素处理后,H1975 细胞中 EGFR 水平均随着去氧地胆草素剂量的增加明显降低,这提示去氧地胆草素可能通过靶向降解 EGFR 对 NSCLC 发挥抑癌作用。EGFR 相关通路失调是包括肺癌在内的多种癌症发展的不良因素之一。在本研究中观察到去氧地胆草素可显著抑制 ERK 和 STAT3 磷酸化水平,而过表达 EGFR 后,可明显提高去氧地胆草素处理后的细胞中 ERK 和 STAT3 蛋白磷酸化水平,提示 EGFR 下游信号通路可能是去氧地胆草素发挥其抗癌作用的潜在作用机制。

此外,本研究还发现,去氧地胆草素可显著增强 PARP 和 caspase-9 裂解。PARP 和 caspase-9 的表达水平与细胞凋亡的发生呈正相关,其中 PARP 可对 DNA 损伤进行识别并修复^[14];而 EGFR 过表达后可显著逆转去氧地胆草素对 PARP 和 caspase-9 裂解的影响,这些数据提示去氧地胆草素的细胞毒性作用是

通过诱导细胞凋亡来实现的。

本研究提示,去氧地胆草素可能通过抑制 EGFR 的激活突变抑制癌细胞增殖、转移,并诱导凋亡,对 NSCLC 发挥抑癌作用。

参考文献:

- [1] LE X, NILSSON M, GOLDMAN J, *et al.* Dual EGFR - VEGF pathway inhibition: A promising strategy for patients with EGFR - mutant NSCLC[J]. *J Thorac Oncol*, 2021, 16(2): 205—215.
- [2] DU X, YANG B, AN Q, *et al.* Acquired resistance to third - generation EGFR - TKIs and emerging next - generation EGFR inhibitors[J]. *Innovation (Camb)*, 2021, 2(2): 100103.
- [3] 江南, 牧辰, 江孝华, 等. 扶正祛邪养阴方辅助化疗治疗晚期气阴两虚型非小细胞肺癌患者的疗效[J]. *世界中医药*, 2023, 18(18): 2651—2655, 2660.
- [4] 吴神佳, 郭颖, 王荣. 去氧地胆草素对人大细胞肺癌 H460 细胞株的抑制作用研究[J]. *阜阳师范大学学报(自然科学版)*, 2024, 41(1): 45—53.
- [5] 肖文华, 黄真, 刘凤娟, 等. 敲低 CD73 的表达对人肺腺癌 H1975 细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响及其机制[J]. *癌症进展*, 2024, 22(1): 30—35.
- [6] 王少正. TAB182 通过 EGFR 信号通路调控人肺癌细胞 EMT 及侵袭迁移[D]. 北京: 军事科学院, 2023.
- [7] 陈桂美, 毛娟. 茯苓酸对具核梭杆菌诱导的肠上皮细胞炎性反应的抑制作用及机制的研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(4): 544—548.
- [8] 栾艳超, 彭海军, 韩青松, 等. DDIT4 对 A549 细胞增殖迁移的影响及其机制[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2022, 29(20): 1460—1466.
- [9] 王泯蓉, 张勇, 沈娟. 山慈菇多糖对人卵巢癌细胞增殖和上皮间质转化的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(13): 1899—1903.
- [10] 贾灿潮, 李玲杰, 曾志浩, 等. 基于地胆草指纹图谱、含量测定及体外抑癌活性的质量标志物预测分析[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(16): 4421—4428.
- [11] 王晓雯. 去氧地胆草素 DET 抑制胰腺癌细胞增殖与生长作用的探究[D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- [12] 高强, 袁双虎. 不同病理亚型 EGFR 敏感突变肺腺癌靶向治疗的疗效与预后分析[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2024, 31(9): 549—555.
- [13] HE J, HUANGZ, HAN L, *et al.* Mechanisms and management of 3rd - generation EGFR - TKI resistance in advanced non - small cell lung cancer (Review)[J]. *Int J Oncol*, 2021, 59(5): 90.
- [14] 金海峰, 吕宾, 陈喆, 等. 温郁金二萜类化合物 C 对人胃癌 SGC - 7901 细胞中 Caspase - 9, 3, 7 和 PARP(89KD) 蛋白表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(2): 395—398.

(收稿日期 2024 - 08 - 23)