

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research白头翁皂苷 B4 通过 *miR* - 142 - 3p 对非小细胞
肺癌细胞恶性生物学行为的研究Research on the malignant biological behavior of non - small cell lung cancer cells
mediated by anemoside B4 via *miR* - 142 - 3p鲁文君^{1a}, 李小军^{1b}, 张振帅^{1c}(1. 甘肃省武威肿瘤医院, a. 胸外科; b. 肿瘤
放疗科; c. 急诊科, 甘肃 武威 733000)LU Wen - jun^{1a}, LI Xiao - jun^{1b},
ZHANG Zhen - shuai^{1c}(1. a. Chest Surgery Department;
b. Oncology Radiotherapy Department;
c. Emergency Department, Gansu Wuwei
Tumour Hospital, Wuwei 733000, Gansu
Province, China)作者简介: 鲁文君(1979 -), 男, 副主任医师, 主
要从事食管癌、肺癌方面的临床诊疗
工作

通信作者: 李小军, 副主任医师

MP: 13150160200

E - mail: anglwe@sina.com

摘要:目的 研究白头翁皂苷 B4 通过微小 RNA - 142 - 3p (*miR* - 142 - 3p) 介导高迁移率族蛋白 A1 (HMGA1) 表达对非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞恶性生物学行为的影响机制。方法 将 A549 细胞分为 A549 组 (正常培养)、白头翁皂苷 B4 组 (100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 处理)、inhibitor NC 组 (100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 + 转染 inhibitor NC 处理)、*miR* - 142 - 3p inhibitor 组 (100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 + 转染 *miR* - 142 - 3p inhibitor 处理)、si - NC 组 (100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 + 共转染 *miR* - 142 - 3p inhibitor 和 si - NC 处理)、si - HMGA1 组 (100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 + 共转染 *miR* - 142 - 3p inhibitor 和 si - HMGA1 处理)。用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应和蛋白质印迹法分别检测 *miR* - 142 - 3p、HMGA1 的相对表达水平, 用 5 - 乙炔基 - 2' 脱氧尿嘧啶核苷 (Edu)、Transwell、原位末端标记 (TUNEL) 法检测细胞的增殖、迁移及凋亡情况。结果 A549 组、白头翁皂苷 B4 组、inhibitor NC 组和 *miR* - 142 - 3p inhibitor 组的 *miR* - 142 - 3p 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 1.58 ± 0.18 、 1.60 ± 0.21 和 1.12 ± 0.16 , HMGA1 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.23 、 0.56 ± 0.07 、 0.59 ± 0.08 和 0.95 ± 0.21 , 增殖率分别为 $(84.62 \pm 9.11)\%$ 、 $(62.15 \pm 7.20)\%$ 、 $(63.89 \pm 7.77)\%$ 和 $(76.35 \pm 8.11)\%$, 迁移数量分别为 (156.23 ± 17.54) 、 (80.65 ± 8.67) 、 (82.15 ± 8.96) 和 (111.55 ± 12.75) 个, 凋亡率分别为 $(8.96 \pm 0.95)\%$ 、 $(32.56 \pm 3.56)\%$ 、 $(33.95 \pm 3.79)\%$ 和 $(16.89 \pm 1.92)\%$ 。si - NC 组和 si - HMGA1 组的增殖率分别为 $(75.98 \pm 8.05)\%$ 和 $(64.52 \pm 7.25)\%$, 迁移数量分别为 (118.85 ± 12.98) 和 (86.95 ± 9.21) 个, 凋亡率分别为 $(17.58 \pm 2.02)\%$ 和 $(28.15 \pm 3.13)\%$ 。A549 组的上述指标与白头翁皂苷 B4 组比较, *miR* - 142 - 3p inhibitor 组的上述指标与 inhibitor NC 组比较, si - HMGA1 组的上述指标与 si - NC 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论 白头翁皂苷 B4 可能通过调控 *miR* - 142 - 3p/HMGA1 轴抑制 NSCLC 细胞的增殖和迁移, 并促进其凋亡。

关键词: 白头翁皂苷 B4; 高迁移率族蛋白 A1; 非小细胞肺癌; 细胞凋亡; 生物学行为

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.06.007

中图分类号: R28 文献标志码: A

文章编号: 1001 - 6821 (2025) 06 - 0784 - 06

Abstract: Objective To investigate the effect of anemoside B4 on the malignant biological behavior of non - small cell lung cancer (NSCLC) cells mediated by microRNA - 142 - 3p (*miR* - 142 - 3p) on the expression of high mobility group protein A1 (HMGA1). **Methods** A549 cells were divided into A549 group (normal culture), anemoside B4 group (100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ anemoside B4 treatment), inhibitor NC group (100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ anemoside B4 + transfection inhibitor NC treatment),

miR-142-3p inhibitor group ($100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ anemoside B4 + transfected with miR-142-3p inhibitor treatment), si-NC group ($100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ anemoside B4 + co-transfected with miR-142-3p inhibitor and si-NC treatment), si-HMGA1 group ($100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ anemoside B4 + co-transfected with miR-142-3p inhibitor and si-HMGA1 treatment). Real-time fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blotting (WB) were used to detect the expression of miR-142-3p and HMGA1. Cell proliferation, migration and apoptosis were detected by 5-acetyliden-2'-deoxyuracil riboside (Edu), Transwell and terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling assay (TUNEL). **Results** The miR-142-3p relative expression levels of A549 group, anemoside B4 group, inhibitor NC group and miR-142-3p inhibitor group were 1.00 ± 0.14 , 1.58 ± 0.18 , 1.60 ± 0.21 and 1.12 ± 0.16 , respectively; the relative expression levels of HMGA1 protein were 1.00 ± 0.23 , 0.56 ± 0.07 , 0.59 ± 0.08 and 0.95 ± 0.21 , respectively; the proliferation rates were $(84.62 \pm 9.11)\%$, $(62.15 \pm 7.20)\%$, $(63.89 \pm 7.77)\%$ and $(76.35 \pm 8.11)\%$, respectively; the migration number was (156.23 ± 17.54) , (80.65 ± 8.67) , (82.15 ± 8.96) and (111.55 ± 12.75) cells, respectively; the apoptosis rates were $(8.96 \pm 0.95)\%$, $(32.56 \pm 3.56)\%$, $(33.95 \pm 3.79)\%$ and $(16.89 \pm 1.92)\%$, respectively. The proliferation rates of si-NC group and si-HMGA1 group were $(75.98 \pm 8.05)\%$ and $(64.52 \pm 7.25)\%$, respectively; the migration number was (118.85 ± 12.98) and (86.95 ± 9.21) cells, and the apoptosis rates were $(17.58 \pm 2.02)\%$ and $(28.15 \pm 3.13)\%$, respectively. The above indexes in A549 group were compared with anemoside B4 group, miR-142-3p inhibitor group were compared with inhibitor NC group, si-HMGA1 group were compared with si-NC group, the differences were all with statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** Anemoside B4 may inhibit proliferation and migration of NSCLC cells and promote apoptosis by regulating the miR-142-3p/HMGA1 axis.

Key words: anemoside B4; high mobility group protein A1; non-small cell lung cancer; cell apoptosis; biological behavior

肺癌是世界范围内发病率和死亡率最高的疾病,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占80%左右,大部分肺癌患者在首诊时已为晚期,放化疗、手术及免疫治疗是肺癌患者的主要治疗方案,但存在耐药性及其他药物不良反应^[1-2]。白头翁皂苷B4是提取自毛茛科植物白头翁的活性成分之一,其具有抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗病毒、肾损伤保护及免疫调节等药理作用^[3]。研究表明,白头翁皂苷B4改善慢性哮喘大鼠的氧化应激和炎症反应的机制可能与其调控转化生长因子 $\beta 1/\text{p}38$ 丝裂原活化蛋白激酶信号通路有关^[4]。本研究以NSCLC系A549、H522细胞为研究对象,考察白头翁皂苷B4通过微小RNA(microRNA, miR)-142-3p/高迁移率组A1(high mobility group protein A1, HMGA1)轴对NSCLC恶性生物学行为的影响机制。

材料与方法

1 材料

细胞 人正常支气管上皮细胞系BEAS-2B、人正常胚肾细胞系293T、非小细胞肺癌细胞系H522、A549,均购自湖南丰晖生物科技有限公司。

药品与试剂 白头翁皂苷B4,规格:每支25 mg,纯度:98.04%,批号:159076,购自上海陶术生物科技有限公司。细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)、TRIzolTM试剂、逆转录试剂盒、5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷(5-ethynyl-2'-deoxyuridine, Edu)检测试剂盒、原位末端标记(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)检测试剂盒、Transwell小室、LipofectamineTM 6000试剂,均购自碧云天生物技术股份有限公司;HMGA1抗体、辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗,均购自英国Abcam公司。si-HMGA1(5'-GGACAAGGCCUAA-CAUCCATT-3')及其对照si-NC(5'-CCTAAG-GTTAAGTCGCCCTCG-3')、HMGA1突变型质粒(mutant type, MUT)及其野生型质粒(wild type, WT)、miR-142-3p引物及探针、HMGA1、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)及U6引物,均购自上海生工生物工程公司。

仪器 Nikon Eclipse Ti-SR荧光显微镜、Ts2R-FL倒置显微镜,均为日本尼康公司产品;LightCycler 480 II荧光定量聚合酶链反应仪,瑞士Roche公司产品;Rt-6100多功能酶标仪,美国Rayto公司

产品。

2 实验方法

2.1 细胞分组与处置方法

①BEAS-2B、H522细胞:BEAS-2B组正常培养不作任何处理,H522组正常培养不作任何处理。②A549细胞:A549组(正常培养不作任何处理);用不同质量浓度白头翁皂苷B4处理A549细胞,分为 $0\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组、 $10\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组、 $50\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组、 $100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组;白头翁皂苷B4组($100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷B4处理A549细胞);inhibitor NC组($100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷B4处理转染inhibitor NC的A549细胞);miR-142-3p inhibitor组($100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷B4处理转染miR-142-3p inhibitor的A549细胞);si-NC组($100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷B4处理共转染miR-142-3p inhibitor和si-NC的A549细胞);si-HMGA1组($100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷B4处理共转染miR-142-3p inhibitor和si-HMGA1的A549细胞)。③293T细胞:inhibitor NC-293T组(inhibitor NC处理组)、miR-142-3p inhibitor-293T组(miR-142-3p inhibitor处理组)。各组细胞均培养24 h。

2.2 CCK-8法检测细胞的增殖能力^[5]

取生长良好的各组细胞进行细胞转染后,接种于96孔板,每孔4 000个细胞(各3个复孔),在24、48、72 h时,每孔加入CCK-8溶液 $10\mu\text{L}$, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理2 h,用酶标仪检测450 nm处的光密度值,以光密度值代表细胞增殖活力,绘制细胞活力曲线,并计算细胞存活率。细胞存活率=(实验组光密度值-空白组光密度值)/(对照组光密度值-空白组光密度值) $\times 100\%$ 。

2.3 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR)法检测miR-142-3p和HMGA1 mRNA的表达水平^[6]

用TRIzolTM试剂提取各组细胞总RNA,用逆转录试剂盒进行逆转录合成互补脱氧核糖核酸,并进行扩增。反应条件:预变性 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s,变性 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 s,退火 $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 s,延伸 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s,共40个循环。GAPDH和U6作为内参进行样品间的校正,用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算相对表达水平。

2.4 蛋白质印迹(Western blotting, WB)法检测HMGA1蛋白的相对表达水平^[5]

提取待分析细胞的总蛋白,并用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白浓度测定试剂盒测

定蛋白浓度,以GAPDH为内参,上样蛋白 $30\mu\text{g}$ 进行电泳,通过湿转法将蛋白转到聚偏二氟乙烯膜上,5%脱脂奶粉中 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 封闭1 h后添加HMGA1一抗, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,Tris盐缓冲液漂洗4次后添加辣根过氧化酶标记的二抗,室温孵育1 h后漂洗4次,最后用化学发光检测试剂盒显色,采集图像并分析灰度值。

2.5 荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测miR-142-3p水平^[7]

各组细胞经多聚甲醛固定、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)冲洗、乙醇脱水后,冲洗后滴加适量预杂交液, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱孵育1 h,倾去预杂交液,滴加适量含miR-142-3p探针(探针序列:5'-DIG-ACCCATAAAGTAGAAAGC-DIG-3')杂交液, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱杂交过夜,倾去杂交液,梯度清洗后用4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)试剂避光染色15 min,洗涤后滴加抗淬灭剂封片,在荧光显微镜下观察并进行判读。

2.6 双荧光素酶报告基因法验证miR-142-3p与HMGA1靶向关系^[8]

通过starBase数据库预测miR-142-3p与HMGA1的靶向结合位点。根据两者结合位点,由上海生工生物公司设计并合成HMGA1-MUT和HMGA1-WT序列,并分别将其插入到pGL3荧光素酶载体中,构建荧光素酶质粒。将对数生长期的各组细胞以每孔 2×10^4 个接种至96孔板上,将构建好的荧光素酶报告质粒400 ng联合 $50\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ miR-142-3p inhibitor或inhibitor NC共转染到293T细胞,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 细胞培养箱中培养48 h,根据双荧光素酶报告基因检测试剂盒测定各组细胞的荧光素酶活性。

2.7 Edu法检测细胞增殖情况^[8]

在96孔板中转染细胞,培养细胞48 h后,吸去细胞培养液,每孔加入含Edu($25\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)培养基 $500\mu\text{L}$ 孵育2 h,磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)清洗3次,加入4%多聚甲醛(每孔 $200\mu\text{L}$)固定30 min, PBS清洗3次,加入0.5% TritonX-100渗透液(每孔 $200\mu\text{L}$)通透10 min,放置10 min,用PBS清洗1次,加入Apollp染色反应液 $500\mu\text{L}$,常温避光放置30 min,再用渗透液清洗3遍,每遍10 min,用DAPI进行细胞核染色30 min, PBS清洗2次,最后用荧光显微镜获取图像并定量分析。

2.8 Transwell 法检测细胞的迁移情况^[7]

在 Transwell 下室加入 500 μL 含有 20% 胎牛血清的空白培养基,用无血清培养基重悬细胞并加入 Transwell 上室,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 恒温箱中温育 24 h,弃掉小室内培养基后,用 PBS 轻轻冲洗,加入 4% 多聚甲醛室温固定细胞 15 min,结晶紫室温染色 20 min,冲洗后室温晾干,用中性树胶对样本进行封片,通过显微镜观察和拍摄结果,并用 Image J 软件分析迁移细胞的数量。

2.9 TUNEL 法检测细胞的凋亡情况^[9]

各组 A549 细胞接种在预先放置盖玻片的 24 孔细胞培养板中,培养 24 h,细胞充分贴壁后,弃掉培养基加入磷酸盐缓冲液漂洗 1 次,加入 4% 多聚甲醛室温固定 30 min,随后用 0.3% Triton X-100 室温孵育 5 min,经 PBS 漂洗 2 次后,每孔加入 TUNEL 检测液 100 μL ,放在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下避光孵育 60 min,最后用 1 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$ DAPI 染色液室温孵育 2 min,经充分漂洗后,取出盖玻片,用封片剂制备临时装片,显微镜下观察。

3 统计学处理

用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较用 t 检验,多组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 *miR-142-3p* 和 *HMGA1* 在肺癌细胞中的表达

BEAS-2B 组、H522 组和 A549 组的 *miR-142-3p* 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.12 、 0.61 ± 0.08 和 0.51 ± 0.06 , *HMGA1* mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.15 、 1.48 ± 0.18 和 1.73 ± 0.21 , *HMGA1* 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.22 、 1.38 ± 0.26 和 1.78 ± 0.32 。A549 组中 *miR-142-3p* 与 *HMGA1* mRNA 和蛋白相对表达水平差异最为明显,后续细胞实验均用 A549 细胞系进行。

2 白头翁皂苷 B4 对 A549 细胞增殖的抑制作用

72 h 时,与 0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组相比,50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组、100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组中 A549 细胞增殖率均明显降低,且呈剂量依赖性(均 $P < 0.05$)。用 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 进行后续实验,见表 1。

3 白头翁皂苷 B4 通过 *miR-142-3p* 调控 *HMGA1* 表达

A549 组细胞正常培养,白头翁皂苷 B4 组细胞用 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 处理;inhibitor NC 组细胞用 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 处理,同时转染

inhibitor NC; *miR-142-3p* inhibitor 组细胞用 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 处理,同时转染 *miR-142-3p* inhibitor; si-NC 组细胞用 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 处理,同时共转染 *miR-142-3p* inhibitor 和 si-NC; si-HMGA1 组细胞用 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 白头翁皂苷 B4 处理,同时共转染 *miR-142-3p* inhibitor 和 si-HMGA1。

starBase 数据库筛查发现, *miR-142-3p* 和 *HMGA1* 存在结合位点。inhibitor NC-293T 组、*miR-142-3p* inhibitor-293T 组与 *HMGA1* WT 共转染的荧光素酶活性分别为 1.00 ± 0.12 和 1.73 ± 0.18 ($P < 0.05$), *HMGA1* MUT 共转染的荧光素酶活性分别为 1.00 ± 0.11 和 1.02 ± 0.12 ($P > 0.05$)。

A549 组、白头翁皂苷 B4 组、inhibitor NC 组和 *miR-142-3p* inhibitor 组的 *miR-142-3p* 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 1.58 ± 0.18 、 1.60 ± 0.21 和 1.12 ± 0.16 , *miR-142-3p* 荧光水平分别为 1.00 ± 0.19 、 1.76 ± 0.24 、 1.72 ± 0.22 和 1.18 ± 0.20 , *HMGA1* mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.15 、 0.62 ± 0.08 、 0.60 ± 0.07 和 0.92 ± 0.10 , *HMGA1* 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.23 、 0.56 ± 0.07 、 0.59 ± 0.08 和 0.95 ± 0.21 。白头翁皂苷 B4 组的上述指标与 A549 组相比, *miR-142-3p* inhibitor 组的上述指标与 inhibitor NC 组相比,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。

4 白头翁皂苷 B4 通过 *miR-142-3p*/*HMGA1* 轴抑制 A549 细胞增殖、迁移及凋亡

如表 2 和图 1 所示,白头翁皂苷 B4 组与 A549 组相比,增殖率和迁移数量均明显降低,凋亡率明显上升(均 $P < 0.01$); *miR-142-3p* inhibitor 组与 inhibitor NC 组相比,增殖率和迁移数量均明显升高,凋亡率明显降低(均 $P < 0.01$); *miR-142-3p* inhibitor + si-HMGA1 组与 *miR-142-3p* inhibitor + si-NC 组相比,增殖率和迁移数量均明显降低,凋亡率明显升高(均 $P < 0.01$)。

表 1 不同浓度白头翁皂苷 B4 对 A549 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of anemoside B4 at different concentrations on proliferation of A549 cells($\bar{x} \pm s$)

Group ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	<i>n</i>	Cell proliferation rate(%)		
		24 h	48 h	72 h
0	8	100.00 $\pm$ 10.12	100.00 $\pm$ 10.62	100.00 $\pm$ 9.52
10	8	98.32 $\pm$ 9.77	95.12 $\pm$ 9.62	94.24 $\pm$ 9.51
50	8	92.15 $\pm$ 9.33	86.23 $\pm$ 8.85 *	81.85 $\pm$ 8.99 **
100	8	87.65 $\pm$ 8.73 *	80.25 $\pm$ 8.58 **	72.86 $\pm$ 7.98 **

Compared with 0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 2 各组细胞增殖、迁移及凋亡率比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of cell proliferation, migration and apoptosis in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	Proliferation rate(%)	Migration number(<i>n</i>)	Apoptosis rate(%)
A549	8	84. 62 ± 9. 11	156. 23 ± 17. 54	8. 96 ± 0. 95
Anemoside B4	8	62. 15 ± 7. 20 * *	80. 65 ± 8. 67 * *	32. 56 ± 3. 56 * *
Inhibitor NC	8	63. 89 ± 7. 77	82. 15 ± 8. 96	33. 95 ± 3. 79
miR - 142 - 3p inhibitor	8	76. 35 ± 8. 11 ^{##}	111. 55 ± 12. 75 ^{##}	16. 89 ± 1. 92 ^{##}
si - NC	8	75. 98 ± 8. 05	118. 85 ± 12. 98	17. 58 ± 2. 02
si - HMGA1	8	64. 52 ± 7. 25 ^{ΔΔ}	86. 95 ± 9. 21 ^{ΔΔ}	28. 15 ± 3. 13 ^{ΔΔ}

A549 group: Normal culture; Anemoside B4 group:100 μg · mL⁻¹ anemoside B4 treatment;inhibitor NC group:100 μg · mL⁻¹ anemoside B4 + transfection inhibitor NC treatment;miR - 142 - 3p inhibitor group:100 μg · mL⁻¹ anemoside B4 + transfected with miR - 142 - 3p inhibitor treatment; si - NC group: 100 μg · mL⁻¹ anemoside B4 + co - transfected with miR - 142 - 3p inhibitor and si - NC treatment; si - HMGA1 group:100 μg · mL⁻¹ anemoside B4 + co - transfected with miR - 142 - 3p inhibitor and si - HMGA1 treatment; Compared with A549 group, * * *P* < 0. 01; Compared with inhibitor NC group, ^{##}*P* < 0. 01; Compared with si - NC group, ^{ΔΔ}*P* < 0. 01.

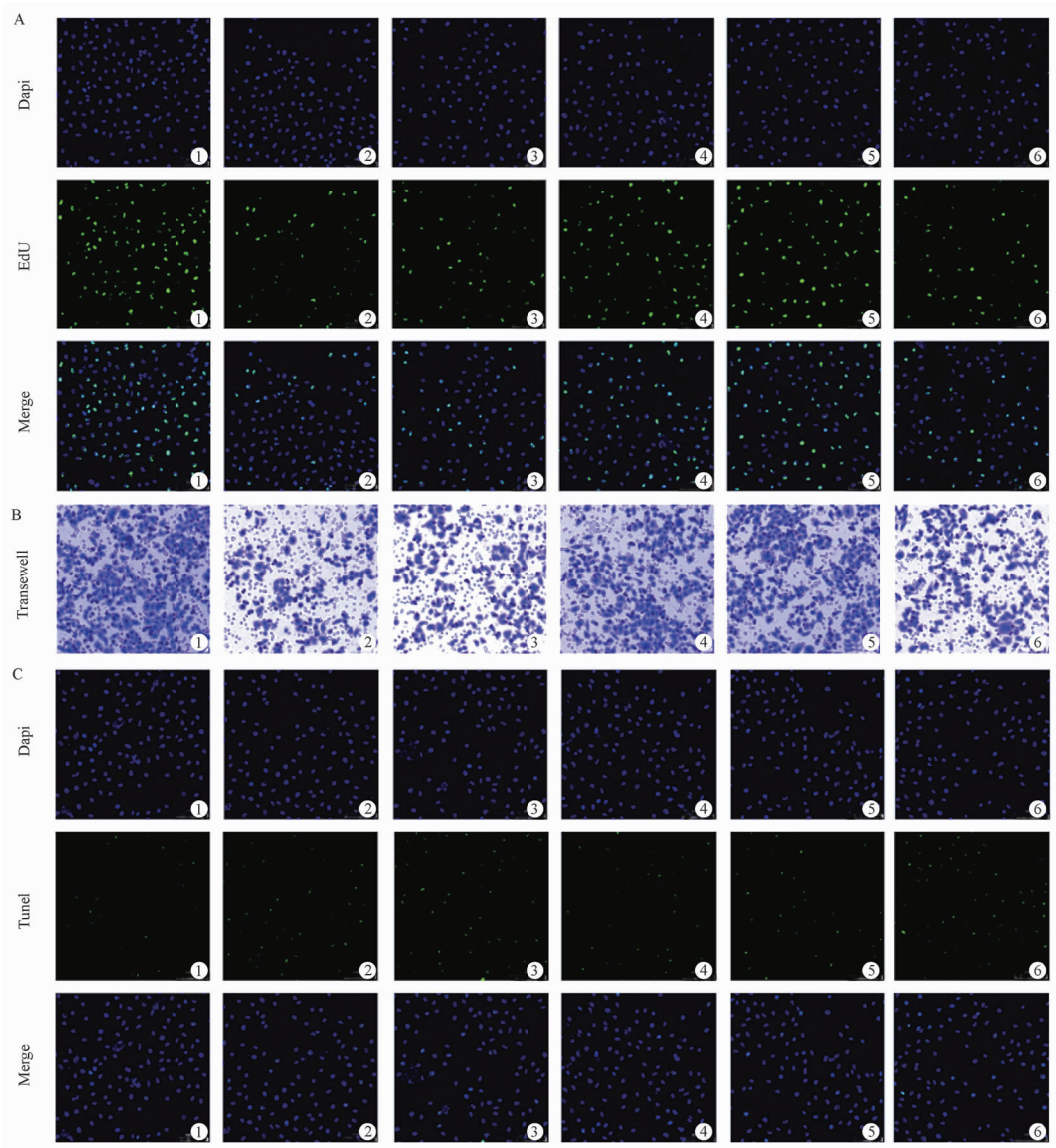


图 1 各组细胞增殖、迁移及凋亡情况

Figure 1 Cell proliferation, migration and apoptosis in each group

A:EdU was used to detect cell proliferation(fluorescence microscope, × 100);B:Transwell assesses cell migration(inverted microscope, × 100);C:TUNEL was used to detect apoptosis(fluorescence microscope, × 100);Group 1:A549 group;Group 2:Anemoside B4 group;Group 3:Inhibitor NC group;Group 4:miR - 142 - 3p inhibitor group;Group 5:si - NC group;Group 6:si - HMGA1 group.

讨 论

肺癌是当今全球分布最广、发病率最高的恶性肿瘤,目前临床以化疗药物联合治疗为首选,但患者生存率仍较差,易产生耐药性等仍是影响肺癌治疗的主要因素^[10]。有研究表明,白头翁总皂苷提取物能够抑制肺癌小鼠的肺部炎症反应,可以通过下调血管内皮因子表达来抑制肿瘤细胞的增殖与迁移^[11]。白头翁皂苷 B4 含量丰富、价格低廉、易转化为临床药物,具有抗肿瘤细胞增殖、增强免疫功能、抗炎等药理活性^[12]。另有研究指出,白头翁皂苷 B4 对包括肝癌在内的多种肿瘤均具有不同程度的抑制作用,可以通过诱导细胞凋亡、抑制血管生成等多种途径发挥抑瘤作用^[13]。官紫祎等^[14]研究证实,白头翁皂苷可以通过 MAPK 通路及调控 Caspase 途径抑制癌细胞核糖体相关蛋白表达,从而抑制恶性生物学行为。在本研究中,用不同剂量的白头翁皂苷 B4 处理 A549 细胞,发现其可呈剂量依赖性抑制癌细胞增殖,表明白头翁皂苷 B4 具有抑制 NSCLC 细胞增殖的作用,与石珊珊^[15]的研究结果类似。

miR-142-3p 位于染色体 17q22,在宫颈癌、黑色素瘤和肝细胞癌中发挥抑癌作用,有研究指出,过表达 *miR-142-3p* 可抑制癌细胞的增殖、迁移及侵袭,参与调控结直肠癌进展^[16]。HMGA 蛋白家族是一类结构性转录因子,其通过改变染色体结构调节与 DNA 复制、转录、重组和修复等相关基因的表达,可以分为 HMGA1 和 HMGA2 亚型,其中 HMGA1 蛋白的过度表达与 NSCLC 的发生、发展及侵袭转移密切相关^[17]。李雪龙等^[18]研究发现,HMGA1 在胃癌组织和细胞中表达上调,可以通过刺激上皮间质转化而加速胃癌的恶性进展。本研究发现,A549 细胞中 *miR-142-3p* 呈显著低表达,HMGA1 高表达,且二者存在靶向关系,与陆晓云等^[19]的结果类似。同时,本研究发现,抑制 *miR-142-3p* 表达可以显著降低白头翁皂苷 B4 处理对 A549 细胞增殖、迁移的抑制作用,降低凋亡率,而敲低 HMGA1 可逆转此作用,提示白头翁皂苷 B4 可能通过 *miR-142-3p*/HMGA1 分子轴抑制 NSCLC 细胞的增殖、迁移,并促进其凋亡,从而发挥抗癌作用。

本研究提示:白头翁皂苷 B4 可以通过抑制 NSCLC 细胞增殖与迁移,诱导细胞凋亡,从而抑制 NSCLC 的进程,这可能是通过靶向调控 *miR-142-3p*/HMGA1 轴实现的。

参考文献:

[1] 陈佳丽,滕龙飞,李素云,等. 基于网络药理学探讨重楼与非小细胞

肺癌相关分子机制[J]. 世界中医药,2022,17(14):1959—1965.

[2] 丁万盛,鲁文君. 华蟾素对非小细胞肺癌细胞的作用及机制研究[J]. 中国临床药理学杂志,2024,40(22):3259—3263.

[3] 苑仁坤,王琴琴,何佳,等. 白头翁药理作用及机制研究进展[J]. 药物评价研究,2024,47(7):1421—1432.

[4] 李晗,赵伟,龚新记,等. 白头翁皂苷 B4 对慢性哮喘大鼠肺组织氧化应激水平及 TGF- β 1/p38MAPK 信号通路的影响[J]. 职业与健康,2022,38(21):2899—2904.

[5] 张博超,马思源,朱萍,等. *miR-4465* 通过靶向下调 HMGA1 的表达抑制肝细胞癌 Hep3B 细胞的恶性生物学行为[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2023,30(12):1066—1073.

[6] 萨日胡,赵得雄,孙文萍. lncRNA PSMA3-AS1 调节 *miR-142-3p*/HMGA2 轴对卵巢癌恶性进展的影响[J]. 现代肿瘤医学,2024,32(8):1401—1409.

[7] 赵峻秀,朱艺,宋筱羽,等. *Circ-0007766* 作为 *miR-1972* 海绵调控 HER2 表达促进乳腺癌细胞迁移和侵袭[J]. 中国癌症杂志,2024,34(10):915—930.

[8] 刘海军,王杰,申珈馨,等. *miR-20a-5p* 通过下调 HOXB13 基因表达抑制肺癌细胞系 A549 增殖[J]. 南方医科大学学报,2022,42(4):568—574.

[9] 李丽芳,徐伟,吴树才,等. 槲皮素通过靶向结合 ALDOA 抑制肺癌细胞增长并促进凋亡[J]. 重庆医科大学学报,2024,49(12):1588—1593.

[10] 李梦洁,黄鼎智. 小细胞肺癌多学科治疗进展[J]. 中国肿瘤临床,2024,51(16):822—828.

[11] 王蔚,刘华,李慧艳,等. 白头翁总皂苷改善肺癌小鼠肺部微环境的作用及机制研究[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35(16):1777—1780.

[12] 塔吉姑丽·吐逊,陈治宇,马琪琪,等. 白头翁汤联合 PD-1 抑制剂对结肠癌小鼠免疫微环境的影响[J]. 陕西中医,2025,46(2):170—175.

[13] XUE S, ZHOU Y, ZHANG J, et al. Anemoside B4 exerts anti-cancer effect by inducing apoptosis and autophagy through inhibition of PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(4):2580—2589.

[14] 官紫祎,陈兰英,罗颖颖,等. 基于糖酵解机制的白头翁皂苷多成分协同抑制人肺癌 NCI-H460 细胞增殖作用研究[J]. 中草药,2019,50(21):5289—5297.

[15] 石珊珊. 白头翁皂苷 B4 对人乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 作用的实验研究[D]. 辽宁 沈阳:辽宁中医药大学,2020.

[16] 李曼,余昌勇,秦鲜,等. *circ-0072083* 靶向 *miR-142-3p* 调控结直肠癌细胞增殖、侵袭和迁移[J]. 河北医药,2023,45(4):509—512,517.

[17] 李斌武,叶振悦,杨思嘉. 沉默 HMGA 基因对非小细胞肺癌 A549 细胞增殖和转移的影响及机制[J]. 温州医科大学学报,2021,51(2):105—110,117.

[18] 李雪龙,李志仁,杨妮. *CircFNDC3B* 调节 *miR-107*/HMGA1 轴对胃癌细胞恶性生物学行为的影响[J]. 解剖学研究,2024,46(3):257—264,271.

[19] 陆晓云,张斌,佟芳. *miR-142-3p* 表达对卵巢癌 SKOV3 细胞生长和转移的影响[J]. 中国医科大学学报,2019,48(9):817—821.

(收稿日期 2024-10-25)