

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research豆蔻明对乳腺癌细胞 MCF-7 有氧糖酵解和
上皮间质转化的影响Effects of cardamonin on aerobic glycolysis and epithelial – mesenchymal transition
in breast cancer cells MCF-7赵 烨^{1,2}, 潘 钢^{1,3}

(1. 浙江中医药大学 研究生院, 浙江 杭州 310053; 2. 杭州市余杭区第一人民医院/浙江大学 医学院 附属第一医院 良渚分院 外科, 浙江 杭州 311100; 3. 杭州市第一人民医院 肿瘤外科, 浙江 杭州 311100)

ZHAO Ye^{1,2}, PAN Gang^{1,3}

(1. School of Graduate, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang Province, China; 2. Department of Surgery, The First People's Hospital of Yuhang District, Hangzhou/Liangzhou Branch, Zhejiang University School of Medicine First Affiliated Hospital, Hangzhou 311100, Zhejiang Province, China; 3. Department of Oncology, Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou 311100, Zhejiang Province, China)

作者简介: 赵烨(1998-), 女, 硕士研究生, 主要从事肿瘤方面的相关研究

通信作者: 潘钢, 副主任医师

MP: 13989843001

E-mail: xjxsh@163.com

摘要:目的 探究豆蔻明通过靶向序列相似性家族 110 成员 A (FAM110A) 调控 Janus 激酶 2 (JAK2)/信号转导和转录激活因子 3 (STAT3) 信号通路对人乳腺癌细胞 MCF-7 有氧糖酵解和上皮间质转化的影响。方法 将乳腺癌细胞 MCF-7 分为对照组 (正常培养不做任何处理)、实验组 (20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 豆蔻明处理)、oe-NC 组 (实验组基础上转染阴性对照质粒 oe-NC)、oe-FAM110A 组 (实验组基础上转染过表达质粒 oe-FAM110A)。用实时荧光定量聚合酶链反应实验检测各组细胞中 FAM110A mRNA 相对表达水平, 用免疫荧光实验检测细胞中 FAM110A 蛋白、上皮间质转化相关蛋白 E-cadherin 和 N-cadherin 表达, 用试剂盒检测各组细胞有氧糖酵解检测指标, 用蛋白质印迹法检测各组细胞中 JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白的磷酸化水平。结果 对照组和实验组的 FAM110A mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.12 和 0.54 ± 0.10 , FAM110A 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.15 和 0.13 ± 0.03 , 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。对照组、实验组、oe-NC 组和 oe-FAM110A 组的 E-cadherin 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 2.98 ± 0.51 、 3.00 ± 0.54 和 1.47 ± 0.26 , N-cadherin 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.11 、 0.41 ± 0.08 、 0.47 ± 0.10 和 0.94 ± 0.17 , 相对乳酸生成量分别为 1.00 ± 0.19 、 0.61 ± 0.11 、 0.59 ± 0.09 和 0.98 ± 0.16 , 相对葡萄糖吸收值分别为 1.00 ± 0.16 、 0.41 ± 0.08 、 0.42 ± 0.08 和 0.88 ± 0.15 , 相对腺苷三磷酸生成量分别为 1.00 ± 0.20 、 0.29 ± 0.05 、 0.33 ± 0.06 和 0.96 ± 0.18 , 磷酸化 JAK2/JAK2 水平分别为 1.00 ± 0.17 、 0.54 ± 0.11 、 0.58 ± 0.10 和 0.91 ± 0.15 , 磷酸化 STAT3/STAT3 水平分别为 1.00 ± 0.14 、 0.37 ± 0.06 、 0.38 ± 0.06 和 0.92 ± 0.12 , 实验组的上述指标与对照组相比, oe-FAM110A 组的上述指标与 oe-NC 组相比, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论 豆蔻明可以抑制乳腺癌细胞 MCF-7 的有氧糖酵解和上皮间质转化进程, 其机制可能是通过下调 FAM110A 表达来抑制 JAK2/STAT3 信号通路。

关键词: 豆蔻明; 乳腺癌; 序列相似性家族 110 成员 A; Janus 激酶 2/信号转导和转录激活因子 3; 有氧糖酵解; 上皮间质转化

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.07.008

中图分类号: R28 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)07-0937-06

Abstract: Objective To explore the regulation by cardamonin through targeting family 110 member A (FAM110A) regulate Janus kinase 2 (JAK2)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway on human breast cancer cells MCF-7 and effects of aerobic glycolysis and epithelial – mesenchymal transformation. **Methods** The breast cancer cells MCF-7 were divided into control group (cultured

normally), experimental group (cells treated with $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ cardamonin), oe - NC group (transfected with negative control plasmid oe - NC on the basis of experimental group), oe - FAM110A group (transfected with overexpressed plasmid oe - FAM110A on the basis of experimental group). Quantitative real - time polymerase chain reaction was used to detect the relative expression levels of FAM110A messenger RNA (mRNA) in each group of cells. The relative expression levels of FAM110A protein and the expression of E - cadherin and N - cadherin, which are related to epithelial mesenchymal transformation, were detected by immunofluorescence assay. Detection indexes of aerobic glycolysis in each group were detected by kit. The JAK2/STAT3 signaling pathway related protein phosphorylation level in each group was detected by Western blot. **Results** The relative expression levels of FAM110A mRNA in control group and experimental group were 1.00 ± 0.12 and 0.54 ± 0.10 , respectively, and the relative expression levels of FAM110A protein were 1.00 ± 0.15 and 0.13 ± 0.03 , respectively; the mRNA and protein relative expression levels of FAM110A in experimental group were significantly different from those in control group (all $P < 0.05$). The relative expression levels of E - cadherin protein in control group, experimental group, oe - NC group and oe - FAM110A group were 1.00 ± 0.14 , 2.98 ± 0.51 , 3.00 ± 0.54 and 1.47 ± 0.26 , respectively; the relative expression levels of N - cadherin protein were 1.00 ± 0.11 , 0.41 ± 0.08 , 0.47 ± 0.10 and 0.94 ± 0.17 ; the relative lactic acid production were 1.00 ± 0.19 , 0.61 ± 0.11 , 0.59 ± 0.09 and 0.98 ± 0.16 , respectively; the relative glucose absorption values were 1.00 ± 0.16 , 0.41 ± 0.08 , 0.42 ± 0.08 and 0.88 ± 0.15 , respectively; the relative adenosine triphosphate production were 1.00 ± 0.20 , 0.29 ± 0.05 , 0.33 ± 0.06 and 0.96 ± 0.18 , respectively; the phospho - JAK2/JAK2 levels were 1.00 ± 0.17 , 0.54 ± 0.11 , 0.58 ± 0.10 and 0.91 ± 0.15 , respectively; the phospho - STAT3/STAT3 levels were 1.00 ± 0.14 , 0.37 ± 0.06 , 0.38 ± 0.06 and 0.92 ± 0.12 , respectively; the above indexes in the experimental group were significantly different from those in the control group, and those in the oe - FAM110A group were significantly different from those in the oe - NC group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Cardamonin can inhibit aerobic glycolysis and epithelial - mesenchymal transition in breast cancer cells MCF - 7, and the mechanism may be through down - regulating FAM110A and inhibiting JAK2/STAT3 signaling pathway.

Key words: cardamonin; breast cancer; sequence similarity family 110 member A; Janus kinase 2/ signal transducer and activator of transcription 3; aerobic glycolysis; epithelial - mesenchymal transition

乳腺癌目前在全球范围内女性恶性肿瘤中发病率是最高的,同时有着高转移率和高死亡率的特点。目前,临床上多用手术、放化疗等方式进行治疗,但由于其肿瘤异质性、耐药性和放化疗手段产生的药物不良反应等原因,仍存在较高的复发率和临床疗效不佳等情况^[1]。中药在抗肿瘤方面获得了越来越多的认可,在乳腺癌治疗中具有重要作用。中药药材来源广泛,在治疗中对患者机体伤害较小,药物不良反应发生率低,对于提高患者治疗依从性和生活质量具有较大的优势,且中医治疗具有多靶点作用特点,注重患者整体健康调节,对于恢复患者免疫力、降低复发、改善预后具有独特的优势^[2]。豆蔻明是一种天然黄酮化合物,主要存在于草豆蔻种子中,在乳腺癌、胃肠道癌等多种肿瘤中发挥抗肿瘤作用^[3]。一方面,有氧糖酵解在肿瘤细胞糖代谢、生长和增殖中有着关键作用,另一方面,上皮间质转化(epithelial - mesenchymal transition, EMT)的发生将诱导癌细胞获得迁移和侵袭特性^[4]。本研究旨在探讨豆蔻明对乳腺癌细胞有氧

糖酵解和 EMT 的影响,以期为临床乳腺癌的治疗提供新思路。

材料与方法

1 材料

细胞 正常人乳腺细胞 MCF - 10A,乳腺癌细胞 MDA - MB - 453、ZR - 75 - 3 和 MCF - 7,均购自思泰默(上海)生物科技有限公司。

药品与试剂 豆蔻明,规格:每瓶 25 mg,纯度:98.56%,批号:S394203,美国 Selleck 公司生产。序列相似性家族 110 成员 A (family 110 member A, FAM110A)、E - 钙黏蛋白(E - cadherin)、N - 钙黏蛋白(N - cadherin)、Janus 激酶 2 (Janus kinase 2, JAK2)、磷酸化 JAK2 (phospho - JAK2, p - JAK2)、信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、磷酸化 STAT3 (phospho - STAT3, p - STAT3)抗体,均为英国 Abcam 公司生产;杜氏培养基 (Dulbecco's modified eagle medium,

DMEM)、DMEM/F12、马血清、非必需氨基酸溶液、胎牛血清、胰蛋白酶、青霉素链霉素双抗,均为美国Gibco公司生产;4%多聚甲醛固定液,北京百奥莱博科技有限公司生产;抗荧光淬灭剂,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司生产;Triton X-100裂解液,北京索莱宝科技有限公司生产;表皮生长因子、Trizol、互补DNA(complementary DNA, cDNA)逆转录试剂盒,均为美国Invitrogen公司生产;细胞计数试剂盒8(cell counting kit 8, CCK-8)、乳酸检测试剂盒、葡萄糖含量检测试剂盒、腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)检测试剂盒,均为上海碧云天生物技术有限公司生产。引物,由上海碧云天生物技术有限公司合成。

仪器 CFX96 Touch 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪,美国Bio-Rad公司产品;ELX800酶标仪,美国BioTek仪器公司产品;DM2500荧光显微镜,德国徕卡公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养、细胞分组与处置方法

将人正常乳腺细胞MCF-10A培养于含有5%马血清、 $20\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 表皮生长因子、 $0.5\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 氢化可的松、 $10\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 胰岛素溶液、1%非必需氨基酸溶液和1%双抗的DMEM/F12培养基中,乳腺癌细胞MDA-MB-453、ZR-75-30和MCF-7用含有10%胎牛血清、1%双抗的DMEM培养,放入5%CO₂、37℃恒温培养箱中培养,每2~3 d换液1次。

将对数生长期的乳腺癌细胞MCF-7分为对照组、实验组、oe-NC组和oe-FAM110A组。对照组:正常培养不做任何处理;实验组:用 $20\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的豆蔻明处理MCF-7细胞;oe-NC组:在实验组的基础上转染阴性对照质粒oe-NC;oe-FAM110A组:在实验组的基础上转染过表达质粒oe-FAM110A。

2.2 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测各组细胞中FAM110A信使核糖核酸(messenger RNA, mRNA)的表达水平^[5]

用Trizol试剂提取各组细胞总RNA,提取步骤按照试剂盒说明书进行,并对其进行定量。用逆转录试剂盒将RNA逆转录成cDNA。以cDNA为模板,用荧光定量PCR仪进行qRT-PCR检测。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)作为内参,用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法计算FAM110A mRNA的表达情况。引物序列如下:FAM110A上游引物5'-GTCCCTGGCTACCTGCTAC-3',

下游5'-CTGTCACACAAGTCGATGAGG-3';GAPDH上游引物:5'-GCGAGATCGCACTCATCATCT-3',下游5'-TCAGTGGTGGACCTGACC-3'。

2.3 CCK-8法检测不同浓度豆蔻明处理后乳腺癌细胞MCF-7的细胞存活率^[6]

药物处理48 h后去除培养基,加入含10% CCK-8试剂的新鲜培养基于37℃孵育1 h后,用酶标仪在450 nm处测定光密度值。

2.4 免疫荧光实验检测各组细胞中FAM110A蛋白和上皮间质转化相关蛋白的表达情况^[7]

将细胞爬片提前洗涤、高压灭菌,接种于6孔板中收集细胞铺板后,4%多聚甲醛固定,0.5% Triton X-100室温通透10 min,5%牛血清白蛋白封闭。加入稀释的FAM110A、E-cadherin、N-cadherin抗体,置于4℃环境中孵育过夜,加入二抗室温孵育1 h,于荧光显微镜下观察抗荧光淬灭剂的封片。

2.5 试剂盒检测各组细胞有氧糖酵解检测指标乳酸生成量、葡萄糖吸收值和ATP生成量^[8]

根据乳酸检测试剂盒、葡萄糖含量检测试剂盒、ATP检测试剂盒说明书,按顺序加入相应试剂孵育,用多功能酶标仪分别检测505、530和340 nm的光密度值,以(处理组光密度值/处理组蛋白浓度)/(对照组光密度值/对照组蛋白浓度)计算葡萄糖消耗量、乳酸生成量及ATP含量的相对水平。

2.6 蛋白质印迹(Western blot, WB)法检测乳腺癌细胞MCF-7中JAK2/STAT3信号通路相关蛋白的磷酸化水平^[9]

提取各组细胞总蛋白并定量,电泳分离蛋白,转膜,5%脱脂奶粉室温封闭2 h,加入JAK2(1:2 000)、p-JAK2(1:1 000)、STAT3(1:2 000)、p-STAT3(1:1 000)抗体,4℃孵育过夜,洗膜后加入二抗(1:5 000),室温孵育1 h,显色后分析条带灰度值,计算蛋白相对表达水平。

3 统计学处理

用SPSS 25.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用独立样本 t 检验。

结 果

1 FAM110A在正常乳腺细胞MCF-10A及乳腺癌细胞MDA-MB-453、ZR-75-30和MCF-7中的表达情况

正常乳腺细胞MCF-10A以及乳腺癌细胞MDA-MB-453、ZR-75-30和MCF-7的

FAM110A mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.18 、 3.84 ± 0.67 、 2.51 ± 0.49 和 5.46 ± 1.01 , 乳腺癌细胞 MDA-MB-453、ZR-75-30 和 MCF-7 的 FAM110A mRNA 相对表达水平均显著高于正常乳腺细胞 MCF-10A (均 $P < 0.001$)。其中, 在乳腺癌细胞 MCF-7 中表达水平上调最为显著, 故后续细胞功能实验选用乳腺癌细胞 MCF-7。

2 不同浓度的豆蔻明对乳腺癌细胞 MCF-7 存活率的影响

0.5、10、20、40、80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 豆蔻明处理后, 细胞的存活率分别为 $(100.00 \pm 3.64)\%$ 、 $(89.17 \pm 7.46)\%$ 、 $(75.36 \pm 6.32)\%$ 、 $(59.25 \pm 6.14)\%$ 、 $(42.51 \pm 5.96)\%$ 和 $(20.62 \pm 4.71)\%$, 5、10、20、40、80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 豆蔻明处理后细胞的存活率与 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 豆蔻明处理后比较, 均显著下降 (均 $P < 0.01$)。半抑制浓度为 28.03 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 故后续实验选用 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为实验组的给药浓度。

3 豆蔻明干预后 FAM110A 在乳腺癌细胞 MCF-7 中的表达情况

对照组给予正常培养不做任何处理, 实验组用 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的豆蔻明处理, oe-NC 组在实验组的基础上转染阴性对照质粒 oe-NC, oe-FAM110A 组在实验组的基础上转染过表达质粒 oe-FAM110A。

对照组和实验组的 FAM110A mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.12 和 0.54 ± 0.10 , FAM110A 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.15 和 0.13 ± 0.03 , 实验组的 FAM110A mRNA 和蛋白相对表达水平均较对照组显著降低 (均 $P < 0.001$)。结果见图 1。

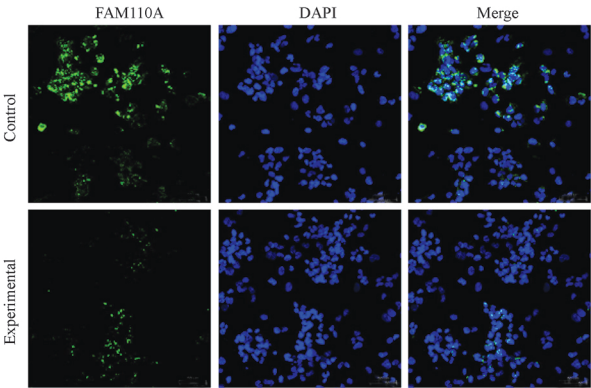


图1 用免疫荧光实验检测各组细胞中序列相似性家族 110 成员 A(FAM110A) 蛋白表达情况($\times 200$)

Figure 1 Sequence similarity family 110 member A(FAM110A) protein expression in cells of each group was detected by immunofluorescence($\times 200$)

Control group: MCF-7 cells were cultured normally; Experimental group: MCF-7 cells were treated with 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ cardamonin.

4 豆蔻明通过 FAM110A 对乳腺癌细胞 MCF-7 有氧糖酵解的影响

实验组的乳酸生成量、葡萄糖吸收量、ATP 生成量与对照组比较, 均显著降低 (均 $P < 0.001$); oe-FAM110A 组的乳酸生成量、葡萄糖吸收量、ATP 生成量与 oe-NC 组比较, 均显著升高 (均 $P < 0.001$); oe-NC 组的上述指标与实验组相比, 在统计学上差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。结果见表 1。

5 豆蔻明通过 FAM110A 对 MCF-7 乳腺癌细胞 EMT 的影响

对照组、实验组、oe-NC 组和 oe-FAM110A 组的 E-cadherin 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 2.98 ± 0.51 、 3.00 ± 0.54 和 1.47 ± 0.26 , N-cadherin 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.11 、 0.41 ± 0.08 、 0.47 ± 0.10 和 0.94 ± 0.17 , 实验组的 E-cadherin、N-cadherin 蛋白相对表达水平与对照组比较, oe-FAM110A 组的 E-cadherin、N-cadherin 蛋白相对表达水平与 oe-NC 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.001$); oe-NC 组的上述指标与实验组相比, 在统计学上差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。结果见图 2。

6 豆蔻明通过 FAM110A 对乳腺癌细胞 MCF-7 中 JAK2/STAT3 通路相关蛋白的影响

对照组、实验组、oe-NC 组和 oe-FAM110A 组的 p-JAK2/JAK2 水平分别为 1.00 ± 0.17 、 0.54 ± 0.11 、 0.58 ± 0.10 和 0.91 ± 0.15 , p-STAT3/STAT3 水平分别为 1.00 ± 0.14 、 0.37 ± 0.06 、 0.38 ± 0.06 和 0.92 ± 0.12 , 实验组的 p-JAK2/JAK2、

表1 各组 MCF-7 细胞葡萄糖吸收量、乳酸生成量和腺苷三磷酸(ATP)生成量比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of glucose absorption, lactic acid production and adenosine triphosphate(ATP) production of MCF-7 cells in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Relative lactate production	Relative glucose absorption value	Relative ATP production
Control	8	1.00 ± 0.19	1.00 ± 0.16	1.00 ± 0.20
Experimental	8	$0.61 \pm 0.11^{***}$	$0.41 \pm 0.08^{***}$	$0.29 \pm 0.05^{***}$
oe-NC	8	0.59 ± 0.09	0.42 ± 0.08	0.33 ± 0.06
oe-FAM110A	8	$0.98 \pm 0.16^{\Delta\Delta\Delta}$	$0.88 \pm 0.15^{\Delta\Delta\Delta}$	$0.96 \pm 0.18^{\Delta\Delta\Delta}$

oe-NC group: The negative control plasmid oe-NC was transfected on the basis of experimental group; oe-FAM110A group: The overexpressed plasmid oe-FAM110A was transfected on the basis of experimental group; Compared with control group, $^{***}P < 0.001$; Compared with oe-NC group, $^{\Delta\Delta\Delta}P < 0.001$.

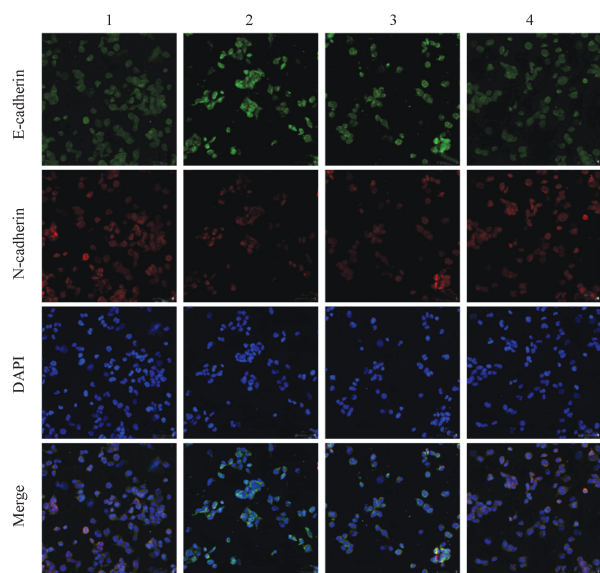


图2 用免疫荧光法检测各组细胞中E-钙黏蛋白(E-cadherin)和N-cadherin的表达水平($\times 200$)

Figure 2 The expression levels of E-cadherin and N-cadherin were detected by immunofluorescence in cells of each group ($\times 200$)

1: Control group; 2: Experimental group; 3: oe-NC group; 4: oe-FAM110A group.

p-STAT3/STAT3 水平均较对照组显著降低, oe-FAM110A 组的 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 水平均较 oe-NC 组显著升高(均 $P < 0.001$); oe-NC 组的上述指标与实验组相比,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。结果见图3。

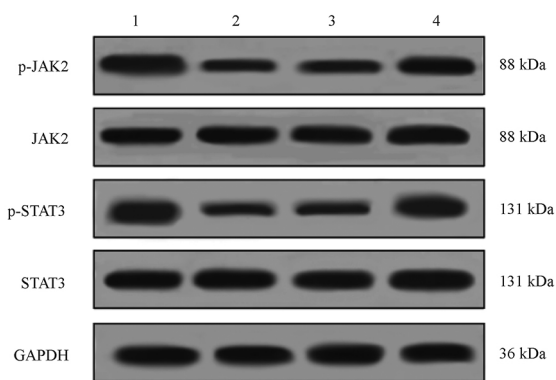


图3 各组乳腺癌细胞 MCF-7 中 Janus 激酶 2(JAK2)/信号转导和转录激活因子 3(STAT3) 信号通路相关蛋白的表达水平

Figure 3 Expression levels of Janus kinase 2 (JAK2)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway-related proteins in MCF-7 of breast cancer cells in each group

1: Control group; 2: Experimental group; 3: oe-NC group; 4: oe-FAM110A group; p-: Phospho-.

讨论

在肿瘤的预防和治疗中,中医药由于其多靶点、药物不良反应小等优势逐渐被人们所重视。研究发现,豆蔻明在抗乳腺癌中有着较高的潜力,其是一种天然存在的类黄酮,有着抗肿瘤、抗炎、抗氧化和抗凝血活性的作用,同时毒性低,药物不良反应小^[10]。TING 等^[11]研究发现,豆蔻明通过调控 $\beta 2$ 肾上腺素能受体抑制结直肠癌细胞的迁移、侵袭和上皮间质转化,并具有抑制小鼠结直肠癌模型中肺转移的作用。在 MENDONCA 等^[12]的研究中,豆蔻明可以调节乳腺癌细胞的免疫微环境,从而逆转三阴性乳腺癌的免疫治疗耐药性。FAM110A 与细胞周期调控有关,在肿瘤细胞中,FAM110A 异常可能与肿瘤细胞周期紊乱有关,可以作为癌症预后和免疫生物标志物。马小雯等^[13]研究发现,FAM110A 在乳腺肿瘤中呈现高表达,其表达水平与患者预后成负相关,与乳腺癌分期成正相关,其可能通过与 E3 泛素连接酶、细胞周期调控蛋白和有丝分裂相关蛋白相互作用来发挥致癌作用。NI 等^[14]研究证实,FAM110A 在肿瘤组织中过表达,其表达水平与肿瘤分期、分型显著相关,高 FAM110A 与患者总生存期及疾病特异性生存期短有关,与肿瘤免疫微环境有着强相关性,是乳腺癌的潜在生物标志物。本研究中,FAM110A 在乳腺癌细胞中高表达,与上述研究结果一致。随着豆蔻明浓度增加,乳腺癌细胞 MCF-7 的存活率不断下降,同时经豆蔻明处理后乳腺癌细胞 MCF-7 中 FAM110A 表达水平降低,提示豆蔻明可以通过下调 FAM110A 来抑制乳腺癌细胞 MCF-7 生长。

在正常细胞中,葡萄糖通过氧化磷酸化代谢途径被消耗,从而提供大量能量。在乳腺癌细胞中,葡萄糖经过一系列糖酵解反应产生大量乳酸和少量能量,导致癌细胞大量需求葡萄糖。有氧糖酵解不仅能给癌细胞提供大量能量,还可以帮助其重塑微环境、免疫逃逸及产生耐药性^[1]。余涛等^[15]研究发现,抑癌因子骨形态发生蛋白 9 可以抑制乳腺癌细胞有氧糖酵解、迁移和侵袭。张玲等^[16]研究发现, Parkin 蛋白可以抑制乳腺癌细胞有氧糖酵解、增殖与迁移,诱导癌细胞凋亡。本研究发现,豆蔻明处理可以减少乳腺癌细胞 MCF-7 乳酸生成量、葡萄糖吸收量和 ATP 生成量,而过表达 FAM110A 可以减弱豆蔻明的作用,说明豆蔻明通过调控 FAM110A 来抑制乳腺癌细胞有氧糖酵解。EMT 是癌细胞侵袭和转移的起始步骤,同时

能够提高抗凋亡能力并诱导向远处转移,也具有促进乳腺癌内分泌治疗耐药的作用,因此,抑制乳腺癌细胞的EMT对乳腺癌治疗及改善预后具有重要意义。研究表明,当上皮标志物E-cadherin表达下调、间充质标志物N-cadherin表达上调时标志着EMT启动^[17]。BAI等^[18]研究发现,乳腺癌易感基因1通过调控GATA结合蛋白3来抑制乳腺癌细胞EMT,从而抑制乳腺癌的发生与转移。本研究中,豆蔻明干预乳腺癌细胞MCF-7后,可以通过调控FAM110A的表达来上调E-cadherin和下调N-cadherin,从而抑制MCF-7细胞的EMT进程。

JAK2/STAT3信号通路在乳腺癌发生与进展中具有重要作用,对乳腺癌细胞的增殖、侵袭等具有调控作用。刘臻臻等^[19]研究发现,益母草碱可以通过减弱JAK2和STAT3磷酸化来增强化疗敏感性,从而抑制乳腺癌细胞的增殖,促进凋亡。STEVENS等^[20]研究发现,抑制JAK2/STAT3信号通路可以调控EMT相关基因表达,抑制紫杉醇治疗乳腺癌时产生的化疗耐药性。本研究发现,豆蔻明处理可以降低乳腺癌细胞MCF-7中p-JAK2/JAK2和p-STAT3/STAT3水平,而过表达FAM110A可以减弱豆蔻明对JAK2/STAT3信号通路的抑制作用,这说明豆蔻明可能通过下调FAM110A的表达来抑制JAK2/STAT3信号通路相关蛋白磷酸化水平,从而影响乳腺癌细胞MCF-7的有氧糖酵解和上皮间质转化进程。

本研究提示:豆蔻明可以通过调控FAM110A的表达来抑制乳腺癌细胞的有氧糖酵解和EMT,这可能与JAK2/STAT3信号通路有关。本研究为治疗乳腺癌提供了新思路。

参考文献:

- [1] 邓显光,阮慧,李恋,等. 有氧糖酵解在乳腺癌中的作用及中医药干预研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2024,30(13):219—229.
- [2] 潘小娟,史晓光,汪唐顺,等. 基于肉瘤基因信号通路探讨槲皮素对乳腺癌MCF-7细胞的作用机制[J]. 世界中医药,2023,18(20):2892—2898.
- [3] LIU X, GUO Y, WANG X, et al. Preparation of cardamomin and IR780 Co-loaded on Lycium barbarum polysaccharide nanoparticles and anti-tumor efficacy evaluation [J/OL]. *J Drug Deliv Sci Tech*, 2024, 99: e106004. 2024-09-01 [2024-10-08]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1773224724006737>.
- [4] KAIQIONG W, ZHIJU C, XIN Q, et al. Hsa_circ_0084003 modulates glycolysis and epithelial-mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma through targeting hsa-miR-143-3p/DNMT3A axis [J]. *Toxicol Res*, 2023, 12(3):457—467.
- [5] 刘若琪,杨永裕,肖旺,等. 恩替卡韦通过微小RNA-199a-5p抑制乙型肝炎病毒复制的机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(24):2969—2973.
- [6] 栗芳,吴斌,岳琳. miR-489通过靶向Twist1调控卵巢癌细胞顺铂耐药的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(23):2840—2844.
- [7] 雷静文,郭小莉,宋丽华,等. 香叶木素对高糖诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(22):2679—2683.
- [8] 靳淑颖,王桂香,臧林泉. 基于P53和多胺代谢探讨黄芪注射液对HCT116细胞能量代谢的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(23):2855—2859.
- [9] 乔梁,王斌,王昱杰,等. 微小RNA-197-3p对鼻窦黏膜上皮细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(6):528—531, 536.
- [10] FENG Z, PAN L, QIAO C, et al. Cardamomin intervenes in myocardial hypertrophy progression by regulating Usp18 [J/OL]. *Phytomedicine*, 2024, 134: e155970. 2024-08-19 [2024-10-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39178681/>.
- [11] TING L, CHUNJU Z, ZHIMIN F. Cardamomin suppressed the migration, invasion, epithelial mesenchymal transition (EMT) and lung metastasis of colorectal cancer cells by down-regulating ADRB2 expression [J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1):1011—1021.
- [12] MENDONCA P, KAUR S, KIRPAL B, et al. Cardamomin anticancer effects through the modulation of the tumor immune microenvironment in triple-negative breast cancer cells [J]. *Am J Cancer Res*, 2024, 14(12):5644—5664.
- [13] 马小雯,杨巍,郝靓. 基于生物信息学分析FAM110A在乳腺癌中的表达及临床意义[J]. 中国医科大学学报, 2022, 51(8):683—687.
- [14] NI Q, ZHANG H, LIU J, et al. FAM110A could serve as a prognostic biomarker for patients with breast cancer: A comprehensive analysis by integrating bulk and single-cell sequencing [J]. *Asian J Surg*, 2024, 47(9):4036—4038.
- [15] 余涛,陈远香,刘施妍,等. BMP9下调HIF-1 α 抑制乳腺癌MDA-MB-231细胞的有氧糖酵解和迁移侵袭[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(5):840—846.
- [16] 张玲,王一翔,胡恋,等. Parkin蛋白抑制三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞的有氧糖酵解和增殖迁移[J]. 现代预防医学, 2023, 50(7):1310—1315.
- [17] 李维妙,郑国旭,梁亮,等. RPRD1B对三阴性乳腺癌细胞生物学功能及上皮间质转化的影响[J]. 山西医科大学学报, 2024, 55(5):544—552.
- [18] BAI F, ZHANG L H, LIU X, et al. GATA3 functions downstream of BRCA1 to suppress EMT in breast cancer [J]. *Theranostics*, 2021, 11(17):8218—8233.
- [19] 刘臻臻,宋远鹏,郑小东,等. 益母草碱调节JAK2/STAT3信号通路对乳腺癌细胞化疗敏感性的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2023, 31(10):1973—1979.
- [20] STEVENS L E, PELUFFO G, QIU X, et al. JAK-STAT signaling in inflammatory breast cancer enables chemotherapy-resistant cell states [J]. *Cancer Res*, 2023, 83(2):264—284.

(收稿日期 2024-10-30)