

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research金福安汤调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路
介导自噬对非小细胞肺癌细胞凋亡的影响Effects of Jinfu' an decoction – mediates autophagy on apoptosis in non – small cell
lung cancer cells by regulating PI3K/Akt/mTOR signaling pathway邢明远^{1a}, 陈学武^{1a}, 吴 亭^{1a},
林学英^{1a}, 符茗铨^{1a}, 王开裕^{1b}(1. 广东省中医院 海南医院, a. 肿瘤科; b. 药学
部, 海南 海口 570203)XING Ming – yuan^{1a},
CHEN Xue – wu^{1a},
WU Ting^{1a}, LIN Xue – ying^{1a},
FU Ming – quan^{1a}, WANG Kai – yu^{1b}(1. a. Department of Oncology; b.
Department of Pharmacy, Guangdong
Provincial Traditional Chinese Medicine
Hospital Hainan Hospital, Haikou
570203, Hainan Province, China)基金项目: 海南省自然科学基金资助
(822MS182); 海南省卫生健康科技
创新联合基金资助项目
(WSJK2025MS143)作者简介: 邢明远(1983 –), 男, 副主任医师, 主
要从事恶性肿瘤的相关研究

通信作者: 邢明远

Tel: (0898) 66131410

E – mail: xing20242025@163.com

摘要:目的 探讨金福安汤通过调控磷脂酰肌醇3 – 激酶/蛋白激酶B/西罗莫司靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)信号通路介导自噬对非小细胞肺癌细胞(A549)凋亡的影响。**方法** 将A549细胞随机分为空白组、对照组、联合组和低、中、高剂量实验组。空白组给予10%空白血清处置;对照组给予20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PI3K特异性激活剂(740Y – P)处置;低、中、高剂量实验组分别给予5%、10%和20%金福安汤含药血清处置;联合组给予20%金福安汤含药血清+20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 740Y – P处置。用流式细胞术检测细胞凋亡率,用蛋白质印迹法检测微管相关蛋白1A/1B – 轻链3(LC3)、泛素结合蛋白(p62)、Akt和mTOR的表达水平。**结果** 高剂量实验组、联合组、对照组和空白组的细胞凋亡率分别为(31.48 $\pm$ 1.35)%、(14.91 $\pm$ 1.26)%、(3.30 $\pm$ 0.45)%和(7.73 $\pm$ 0.50)% , LC3 II/I蛋白相对表达水平分别为1.13 $\pm$ 0.10、0.77 $\pm$ 0.06、0.31 $\pm$ 0.04和0.50 $\pm$ 0.04, p62蛋白相对表达水平分别为0.32 $\pm$ 0.03、0.56 $\pm$ 0.05、1.07 $\pm$ 0.06和0.83 $\pm$ 0.06, p – Akt/Akt蛋白相对表达水平分别为0.33 $\pm$ 0.04、0.80 $\pm$ 0.07、0.98 $\pm$ 0.09和0.52 $\pm$ 0.03, p – mTOR/mTOR蛋白相对表达水平分别为0.53 $\pm$ 0.04、0.84 $\pm$ 0.06、1.14 $\pm$ 0.08和1.01 $\pm$ 0.06。高剂量实验组的上述指标与联合组和空白组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** 金福安汤可以促进A549细胞凋亡,其作用机制可能与抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路进而激活细胞自噬有关。

关键词: 金福安汤; 非小细胞肺癌; 凋亡; 自噬; 磷脂酰肌醇3 – 激酶/蛋白激酶B/西罗莫司靶蛋白信号通路

DOI: 10.13699/j.cnki.1001 – 6821.2025.11.008

中图分类号: R28

文献标志码: A

文章编号: 1001 – 6821(2025)11 – 1538 – 06

Abstract: Objective To investigate the effect of Jinfu' an decoction on the apoptosis of non – small cell lung cancer cells (A549) by regulating phosphatidylinositol 3 – kinase/ protein kinase B/ mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) signaling pathway mediated autophagy.

Methods A549 cells were randomly divided into blank group, control group, combined group and experimental – L, – M, – H groups. The blank group was treated with 10% blank serum. The control group was treated with 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PI3K specific activator (740Y – P). The experimental – L, – M, – H groups were treated with 5%, 10% and 20% Jinfu' an decoction containing serum, respectively. The combined group was treated with 20% Jinfu' an decoction serum + 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 740Y – P. Flow cytometry was used to detect the apoptosis rate. Western

blot was used to detect the expression levels of microtubule - associated protein 1A/1B - light chain 3 (LC3), sequestosome - 1 (p62), Akt and mTOR. **Results** The apoptosis rates of experimental - H group, combined group, control group and blank group were $(31.48 \pm 1.35)\%$, $(14.91 \pm 1.26)\%$, $(3.30 \pm 0.45)\%$ and $(7.73 \pm 0.50)\%$, respectively; the relative expression levels of LC3 II / I protein were 1.13 ± 0.10 , 0.77 ± 0.06 , 0.31 ± 0.04 and 0.50 ± 0.04 , respectively; the relative expression levels of p62 protein were 0.32 ± 0.03 , 0.56 ± 0.05 , 1.07 ± 0.06 and 0.83 ± 0.06 , respectively; the relative expression levels of p - Akt/Akt protein were 0.33 ± 0.04 , 0.80 ± 0.07 , 0.98 ± 0.09 and 0.52 ± 0.03 , respectively; the relative expression levels of p - mTOR/mTOR protein were 0.53 ± 0.04 , 0.84 ± 0.06 , 1.14 ± 0.08 and 1.01 ± 0.06 , respectively. The above indexes of the experimental - H group were statistically different from those of the combination group and the blank group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Jinfu'an decoction can promote the apoptosis of A549 cells, and its mechanism may be related to the inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and the activation of cell autophagy.

Key words: Jinfu'an decoction; non - small cell lung cancer; apoptosis; autophagy; phosphatidylinositol 3 - kinase/protein kinase B/ mammalian target of rapamycin signaling pathway

非小细胞肺癌 (non - small cell lung cancer, NSCLC) 是一种肺恶性肿瘤, 易发生中枢神经系统、骨骼等组织转移, 且手术或放化疗后患者的临床生存率依然很低^[1]。研究表明, 细胞自噬与肿瘤的发生发展关系密切^[2]。磷脂酰肌醇 3 - 激酶/蛋白激酶 B/西罗莫司靶蛋白 (phosphatidylinositol 3 - kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin, PI3K/Akt/mTOR) 是经典的自噬调控通路, 可以通过抑制自噬来促进肿瘤细胞增殖和迁移^[3]。中药活性成分、制剂或复方在调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路治疗 NSCLC 方面发挥着明显优势^[4]。金福安汤由国医大师邓铁涛教授以“痰瘀”为主要病机结合多年临床经验拟方, 旨在缓解 NSCLC 患者肿瘤相关症状, 减轻化疗的药物不良反应。研究表明, 金福安汤结合顺铂等化疗药物发挥了显著的抑制肿瘤和提高患者免疫功能的作用^[5], 且相对安全、温和。本研究基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路介导的自噬途径观察金福安汤对人非小细胞肺癌细胞 A549 凋亡的影响, 以期对中药复方防治肿瘤提供依据。

材料与方法

1 材料

动物 SPF 级雄性 SD 大鼠, 6 周龄, 体质量 180 ~ 200 g, 湖北贝恩特生物科技有限公司提供。动物生产许可证号: SCXK (鄂) 2021 - 0027。本实验经广东省中医院海南医院实验动物管理与使用委员会批准 (伦理批号: IACUC - HHGPHCM - 2405019)。

细胞株 人非小细胞肺癌细胞 A549, 购自中国科学院细胞库。

药品与试剂 生半夏, 批号: 20230112, 产地: 云南; 生南星, 批号: 20221225, 产地: 河南; 太子参, 批号: 20230221, 产地: 江西; 守宫, 批号: 20230130, 产地: 江苏; 浙贝母, 批号: 20221202, 产地: 浙江; 苇茎, 批号: 20230205, 产地: 湖北; 生苡仁, 批号: 20221210, 产地: 福建; 山慈菇, 批号: 20221129, 产地: 贵州; 丹参, 批号: 20230106, 产地: 河南; 桃仁, 批号: 20230120, 产地: 陕西, 均购自中国药材集团公司, 经广东省中医院海南医院药剂科王开裕教授鉴定为正品。磷脂酰肌醇 3 - 激酶 (phosphatidylinositol 3 - kinase, PI3K) 特异性激活剂 (740Y - P), 规格: 每瓶 1 mg, 含量: > 98%, 批号: 85720, 美国 MedChemExpress 公司生产。活化半胱氨酸蛋白酶 (cleaved - cysteinyl aspartate specific proteinase, cleaved caspase - 3)、B 淋巴细胞瘤 - 2 (B - cell lymphoma - 2, Bcl - 2)、Bcl - 2 相关 X 蛋白 (Bcl - 2 - associated X protein, Bax)、微管相关蛋白 1A/1B - 轻链 3 (microtubule - associated protein 1A/1B - light chain 3, LC3)、泛素结合蛋白 (sequestosome - 1, p62)、PI3K (p110 α) 抗体, 均由美国 Cell Signaling Technology 公司生产; 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、磷酸化 Akt [phosphorylated - Akt, p - Akt (Ser473)]、西罗莫司靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR)、磷酸化 mTOR [phosphorylated - mTOR, p - mTOR (Ser2448)]、自噬相关蛋白 1 (unc - 51 - like kinase 1, ULK1) 抗体, 均由英国 Abcam 公司生产; 细胞计数试剂盒 - 8 (cell counting kit - 8, CCK - 8) 试剂盒、单丹磺酰尸胺 (dansylcadaverine, MDC) 染色试剂盒、细胞凋亡试剂盒, 均由上海碧云天生物技术股份有限公司生产。

仪器 CKX53 荧光显微镜, 日本 OLYMPUS 公司

产品;8400 流式细胞检测仪,美国 FlowCam 公司产品;SpectraMax iD3 多功能酶标仪,上海美谷分子仪器有限公司产品;Gel DocEZ 凝胶成像分析仪,美国 Bio-Rad 公司产品。

2 实验方法

2.1 药物配制^[5]

取生半夏 10 g 和生南星 10 g 水煎煮 30 min,再与太子参 30 g、守宫 5 g、浙贝母 15 g、苇茎 30 g、生苡仁 30 g、山慈菇 10 g、丹参 15 g 和桃仁 10 g 混合煎煮 2 次,将 2 次药汁混合后过滤,于 60 ℃ 恒温水浴浓缩至含生药量为 10 mg · mL⁻¹ 备用。

2.2 含药血清制备^[6]

金福安汤临床推荐成人给药剂量为 165 g · d⁻¹,按照人(70 kg)与大鼠的单位体质量折算系数换算,大鼠给药剂量为 15 g · kg⁻¹ · d⁻¹。将 20 只 SD 大鼠随机分为金福安汤组和空白组,每组 10 只。金福安汤组灌胃给予 15 g · kg⁻¹ 的金福安汤,空白组灌胃给予等量 0.9% NaCl。2 组大鼠每天给药 1 次,连续 7 d。末次给药 1 h 后,用 10% 水合氯醛麻醉大鼠,经腹主动脉取血,以 4 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,56 ℃ 灭活 30 min,0.22 μm 滤头过滤除菌,得到金福安汤含药血清和空白血清。

2.3 细胞培养、细胞分组与处置方法^[7]

用含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 F-12K 完全培养基培养 A549 细胞,培养箱湿度为 70% ~ 80%,温度 37 ℃。将 A549 细胞随机分为空白组、对照组、联合组和低、中、高剂量实验组。空白组用含有 10% 空白血清的 F-12K 培养基培养细胞 48 h;低、中、高剂量实验组分别用含有 5%、10% 和 20% 金福安汤含药血清的 F-12K 培养基培养细胞 48 h;对照组用 20 μmol · L⁻¹ 740Y-P 处理细胞 48 h;联合组用含有 20% 金福安汤含药血清 + 20 μmol · L⁻¹ 740Y-P 的 F-12K 培养基处理细胞 48 h。

2.4 CCK-8 法检测细胞增殖活性^[8]

将细胞接种于 96 孔板中,每孔 5 × 10³ 个细胞(100 μL),按“2.3”的方法进行分组和处置,干预 48 h 后,每孔加入 CCK-8 溶液 10 μL,设置空白对照组(培养基 + CCK-8 溶液),培养箱内孵育 1 h,用酶标仪在 450 nm 处测定光密度(optical density, OD)。

2.5 流式细胞术检测细胞凋亡情况^[9]

加入胰酶适度消化各组细胞,转移至离心管中,以 2 400 r · min⁻¹ 离心 5 min,收集细胞沉淀加入 Annexin V-FITC 结合液重悬,继续加入 Annexin V-FITC 工作液和碘化丙啶染色液轻轻混匀,室温避

光孵育 10 min,于流式细胞仪上机检测细胞凋亡率。

2.6 MDC 染色法检测细胞自噬水平^[10]

将各组细胞接种于 12 孔板中,每孔 5 × 10⁴ 个细胞,待细胞贴壁后每孔加入 MDC 染色液 0.5 mL,于培养箱中孵育 20 min,吸净染液,加入 Assay Buffer 0.5 mL,在荧光显微镜下观察绿色荧光。

2.7 蛋白质印迹法检测自噬和凋亡相关蛋白的表达水平^[11]

收集各组细胞沉淀,加入 RIPA 裂解液充分裂解细胞,取总蛋白 20 μL 加热至 95 ℃ 变性。上样至十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳进行电泳,随后转至聚偏二氟乙烯膜,室温下将膜浸入封闭缓冲液(5% 脱脂牛奶)中孵育 1 h, TBST 清洗 3 次,加入 1:1 000 稀释的一抗,于 4 ℃ 孵育慢摇过夜, TBST 清洗 3 次,加入 HRP 标记的二抗(1:3 000 稀释),室温下轻轻搅拌 1 h, TBST 清洗 3 次,滴加 ECL 试剂显色,曝光胶片,分析条带灰度值。

3 统计学处理

用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间数据比较用单因素方差分析,2 组间比较用 LSD-t 法。

结 果

1 金福安汤抑制 A549 细胞增殖并诱导凋亡

低、中、高剂量实验组分别用含有 5%、10% 和 20% 金福安汤含药血清的 F-12K 培养基培养;对照组用 20 μmol · L⁻¹ 740Y-P 处理细胞 48 h;联合组用含有 20% 金福安汤含药血清 + 20 μmol · L⁻¹ 740Y-P 的 F-12K 培养基培养;空白组用含有 10% 空白血清的 F-12K 培养基培养。

空白组和低、中、高剂量实验组细胞增殖活性分别为 (97.02 ± 2.55)%、(82.31 ± 3.24)%、(53.14 ± 2.48)% 和 (33.17 ± 2.11)%,细胞凋亡率分别为 (6.38 ± 0.69)%、(13.11 ± 0.81)%、(22.40 ± 1.20)% 和 (31.40 ± 1.25)%。低、中、高剂量实验组与对照组比较,细胞凋亡率和细胞中 cleaved caspase-3、Bax 蛋白相对表达水平均显著升高,细胞增殖活性和细胞中 Bcl-2 蛋白相对表达水平均显著降低(均 $P < 0.05$)。结果见表 1 和图 1。

2 金福安汤促进 A549 细胞自噬

如图 2 所示:低、中、高剂量实验组与空白组比较,A549 细胞绿色荧光强度逐渐增高,自噬体形成明显增多。低、中、高剂量实验组与空白组相比,

表 1 金福安汤对 A549 细胞中凋亡和自噬相关蛋白表达水平的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of Jinfu'an decoction on the expression levels of apoptosis and autophagy-related proteins in A549 cells($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose	n	Bax	Bcl-2	Cleaved caspase-3	LC3 II/I	p62
Blank	-	8	0.33 ± 0.04	0.90 ± 0.06	0.06 ± 0.02	0.43 ± 0.03	0.97 ± 0.03
Experimental - L	5%	8	0.52 ± 0.06 *	0.54 ± 0.04 *	0.45 ± 0.03 *	1.27 ± 0.06 *	0.82 ± 0.05 *
Experimental - M	10%	8	0.88 ± 0.06 *	0.35 ± 0.04 *	0.90 ± 0.07 *	1.81 ± 0.10 *	0.67 ± 0.04 *
Experimental - H	2%	8	1.09 ± 0.07 *	0.14 ± 0.02 *	1.05 ± 0.06 *	3.05 ± 0.31 *	0.45 ± 0.04 *

Bcl-2; B-cell lymphoma-2; Bax; Bcl-2-associated X protein; Cleaved caspase-3; Cleaved-cysteiny aspartate specific proteinase; LC3; Microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3; Compared with blank group, * $P < 0.05$.

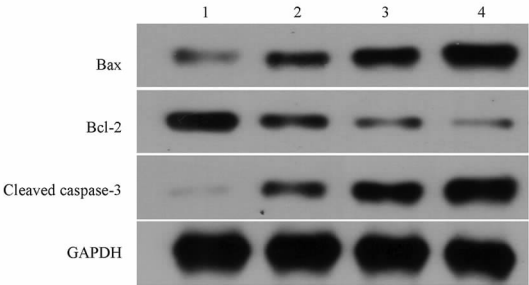


图 1 金福安汤对 A549 细胞凋亡蛋白的影响

Figure 1 Effects of Jinfu'an decoction on apoptotic proteins of A549 cells

1; Blank group; 2, 3, 4; Experimental - L, - M, - H groups, respectively.

LC3 II/I 蛋白比值均显著升高, p62 蛋白相对表达水平均显著降低(均 $P < 0.05$)。

3 金福安汤抑制 A549 细胞中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路活化

如图 3 和表 2 所示:低、中、高剂量实验组与空白组比较,细胞中 PI3K 蛋白相对表达水平以及 p-Akt/Akt 比值、p-mTOR/mTOR 比值均显著降低,ULK1 蛋白相对表达水平均显著升高(均 $P < 0.05$)。

4 激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路通过抑制细胞自噬逆转金福安汤对 A549 细胞凋亡的诱导作用

如表 3 和图 4 所示:高剂量实验组与空白组比较,细胞凋亡率和细胞中 LC3 II/I 比值均显著升高, p62 蛋白相对表达水平和 p-Akt/Akt 比值、p-mTOR/mTOR 比值均显著降低(均 $P < 0.05$);对照组与高剂量实验组比较,细胞凋亡率和细胞中 LC3 II/I 比值均显著降低, p62 蛋白相对表达水平和 p-Akt/Akt 比值、p-mTOR/mTOR 比值均显著升

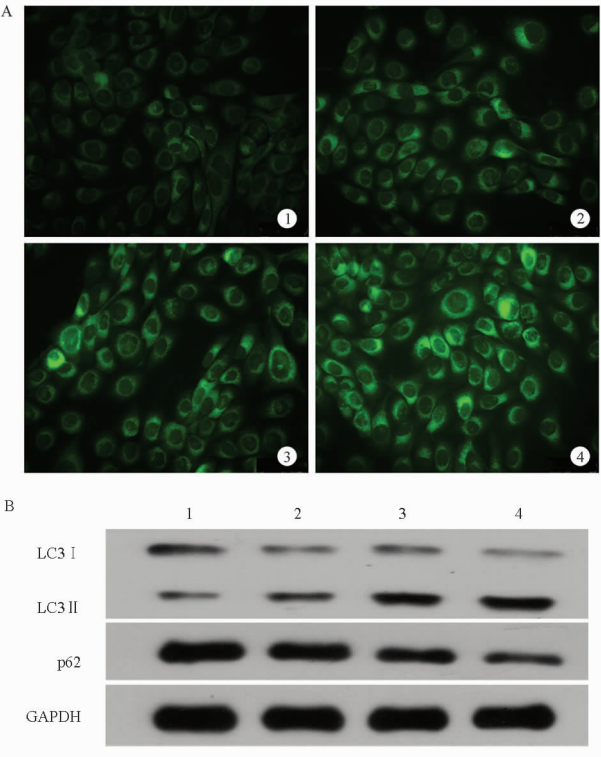


图 2 金福安汤对 A549 细胞自噬的影响

Figure 2 Effects of Jinfu'an decoction on autophagy in A549 cells

A: Formation of autophagosomes in each group($\times 400$); B: Protein expression levels in each group; 1-4 refer to figure 1.

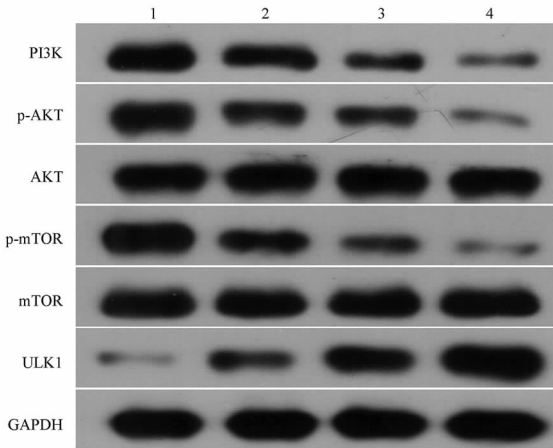


图 3 金福安汤对 A549 细胞中磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/西罗莫司靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)信号通路的影响

Figure 3 Effects of Jinfu'an decoction on phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) signaling pathway in A549 cells

1-4 refer to figure 1; ULK1;unc-51-like kinase 1.

表 2 金福安汤对 A549 细胞中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白表达水平的影响($\bar{x} \pm s$)

Group	PI3K	p - Akt/Akt	p - mTOR/ mTOR	ULK1
Blank	0. 94 ± 0. 06	0. 99 ± 0. 07	1. 04 ± 0. 06	0. 14 ± 0. 02
Experimental - L	0. 77 ± 0. 05 *	0. 65 ± 0. 04 *	0. 83 ± 0. 05 *	0. 41 ± 0. 03 *
Experimental - M	0. 50 ± 0. 03 *	0. 53 ± 0. 05 *	0. 49 ± 0. 04 *	0. 75 ± 0. 06 *
Experimental - H	0. 26 ± 0. 03 *	0. 21 ± 0. 03 *	0. 17 ± 0. 02 *	1. 03 ± 0. 07 *

Dose and *n* refer to table 1; Compared with blank group, * *P* < 0. 05.

表 3 金福安汤对 A549 细胞中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白表达水平和凋亡的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of Jinfu' an decoction on the expression levels of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway related proteins and apoptosis in A549 cells($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	Apoptosis rate(%)	LC3 II / I	p62	p - Akt/Akt	p - mTOR/mTOR
Blank	8	7. 73 ± 0. 50	0. 50 ± 0. 04	0. 83 ± 0. 06	0. 52 ± 0. 03	1. 01 ± 0. 06
Experimental - H	8	31. 48 ± 1. 35 *	1. 13 ± 0. 10 *	0. 32 ± 0. 03 *	0. 33 ± 0. 04 *	0. 53 ± 0. 04 *
Control	8	3. 30 ± 0. 45 *	0. 31 ± 0. 04 *	1. 07 ± 0. 06 *	0. 98 ± 0. 09 *	1. 14 ± 0. 08 *
Combined	8	14. 91 ± 1. 26 [#]	0. 77 ± 0. 06 [#]	0. 56 ± 0. 05 [#]	0. 80 ± 0. 07 [#]	0. 84 ± 0. 06 [#]

Control group; Treated with 740Y - P with a concentration of 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; Combined group; Cultured in F - 12K medium containing 20% of Jinfu' an decoction medicinal serum, and the cells were treated with 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; Compared with blank group, * *P* < 0. 05; Compared with experimental - H group, [#] *P* < 0. 05.

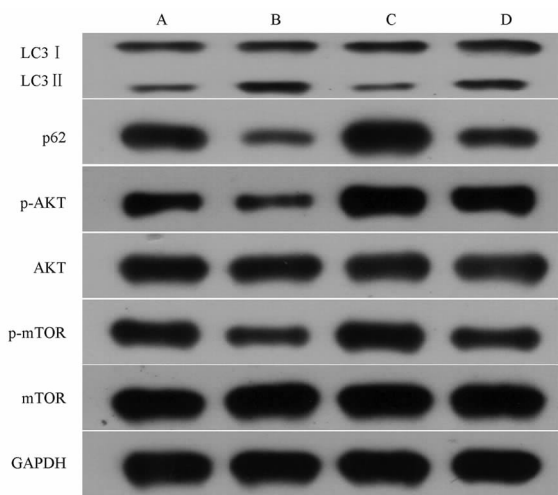


图 4 激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对金福安汤诱导 A549 细胞凋亡的影响

Figure 4 Effects of activating PI3K/Akt/mTOR signaling pathway on apoptosis of A549 cells induced by Jinfu' an decoction
A: Blank group; B: Experimental - H group; C: Control group; D: Combined group.

高(均 *P* < 0. 05)。

联合组与高剂量实验组比较,细胞凋亡率和细胞中 LC3 II / I 比值均显著降低, p62 蛋白相对表达水平和 p - Akt/Akt 比值、p - mTOR/mTOR 比值均显著升高(均 *P* < 0. 05)。

讨 论

中医认为正气虚损、痰瘀是肿瘤侵袭和转移的主

要病因,金福安汤以生半夏、南星、山慈菇、浙贝母消肿散结,辅以苇茎、丹参等药材清肺解毒、活血化瘀,共奏消癥散结之功效^[12]。在癌症发展过程中,细胞凋亡失调可能导致癌细胞无限增殖并发生转移,恢复凋亡平衡是治疗癌症的潜在策略^[13]。凋亡的发生分为诱导、执行和效应 3 个阶段,由线粒体、内质网等多途径参与,但都离不开对 Bcl - 2、Bax 和 cleaved caspase - 3 等关键蛋白的调控,三者在细胞凋亡传导过程中相互联系并相互制约^[14]。本研究发现,经金福安汤干预后, A549 细胞增殖活性降低, Bax 和 cleaved caspase - 3 蛋白相对表达水平均显著升高, Bcl - 2 蛋白相对表达水平显著降低,说明金福安汤具有促进肺癌细胞凋亡、抑制细胞增殖的作用。然而, PI3K 特异性激活剂 740 Y - P 联合干预可以逆转金福安汤对 A549 细胞凋亡的促进作用,提示金福安汤抑制 A549 细胞恶性生物学行为发展可能是通过抑制 PI3K 相关信号通路实现的。

自噬和凋亡是细胞自我代谢的 2 种病理生理学机制,在特定情况下相互抑制或促进^[15]。细胞的选择性自噬依赖于脂化 LC3 蛋白和 p62 自噬受体 2 种成分,前者从胞浆 LC3 - I 转变为 LC3 - II 成为自噬体结构蛋白,而后者作为自噬底物,其蛋白表达水平与自噬活性呈负相关关系。临床研究发现, NSCLC 患者癌组织中 LC3 蛋白表达减少, p62 蛋白表达增加,说明在 NSCLC 肿瘤细胞中自噬作用被抑制^[16]。张小林等^[17]研究发现,丹参的主要活性成分丹参多酚酸盐

可以诱导胶质瘤细胞自噬,提示金福安汤中的丹参可能成为调控 A549 细胞自噬的有效成分之一。本研究发现,金福安汤可显著上调 A549 细胞中 LC3-Ⅱ/I 蛋白比值,下调 p62 蛋白表达水平,同时细胞中自噬小体形成增多,说明金福安汤促进 A549 细胞凋亡、抑制细胞增殖可能是通过激活细胞自噬途径实现的,这与杨朋等^[18]研究结果一致。

PI3K/Akt/mTOR 信号通路参与细胞自噬和凋亡过程,在宫颈癌、胃癌、肺癌等多种恶性肿瘤进展中发挥作用。当 PI3K/Akt/mTOR 通路被激活时,下游的 mTOR 蛋白触发一系列分解代谢程序,抑制细胞自噬,癌细胞增殖速度加快^[19-20]。YAN 等^[21]研究发现,抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路激活可以通过调节自噬促进 A549 细胞凋亡。研究发现,金福安汤中的守宫、山慈菇等多种中药成分对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路具有调控作用^[22-23]。本研究发现,金福安汤干预 A549 细胞后,细胞中 PI3K 蛋白相对表达水平和 p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 蛋白比值均显著降低,ULK1 蛋白相对表达水平显著升高,提示 PI3K/Akt/mTOR 信号通路被抑制;然而,740Y-P 联合干预使 PI3K/Akt/mTOR 信号通路被重新激活。这说明金福安汤激活 A549 细胞自噬,促进细胞凋亡可能是通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路实现的。

本研究提示:金福安汤可以激活细胞自噬,从而促进肺癌细胞凋亡并抑制细胞增殖,其途径可能是通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路实现的。

参考文献:

- [1] MITHOOWANI H, FEBBRARO M. Non-small-cell lung cancer in 2022: A review for general practitioners in oncology[J]. *Curr Oncol*, 2022, 29(3):1828—1839.
- [2] KLIONSKY D J, PETRONI G, AMARAVADI R K, et al. Autophagy in major human diseases [J/OL]. *EMBO J*, 2021, 40(19): e108863. 2021-10-01 [2024-10-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34459017/>.
- [3] GLAVIANO A, FOO A S C, LAM H Y, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1):138.
- [4] 魏文海, 李兴芳, 赵琼, 等. PI3K/Akt/mTOR 信号通路抗非小细胞肺癌的机制及中药干预研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(23):218—226.
- [5] 王亚男, 曹洋. 金福安汤与顺铂对 A549 肺癌荷瘤小鼠生活质量影响和抑瘤作用的比较研究[J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(12):2865—2867.
- [6] 李冀, 王晓雨, 付殷, 等. 尖叶假龙胆含药血清对 H/R 损伤 H9c2 细胞自噬及凋亡影响的研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2022, 49(10):192—197, 224.
- [7] LI F, GU F, LI Q, et al. ROR1-AS1 knockdown inhibits growth and invasion and promotes apoptosis in NSCLC cells by suppression of the PI3K/Akt/mTOR pathway [J/OL]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2021, 35(5):e22726. 2021-01-24 [2024-10-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33491326/>.
- [8] 李玉玲, 杨建林, 崔芝, 等. 新型精胺氧化酶抑制药对人胃癌 SGC-7901 细胞增殖、凋亡和自噬的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(16):2343—2347.
- [9] 杨鑫娜, 蔡辉耀, 陈丽君, 等. 高碘通过内质网应激和 P38MAPK 信号通路诱导甲状腺上皮细胞损伤的研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(16):2339—2343.
- [10] 任泽昊, 张彦, 刘东辉, 等. 去氢毛茛藤碱抗突变型 p53 (R273H) 结直肠癌的体外作用机制研究[J]. *中草药*, 2024, 55(10):3354—3362.
- [11] 张亮, 刘思佳, 刘鑫, 等. N-乙酰半胱氨酸酰胺对脂多糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症的保护作用及机制研究[J]. *免疫学杂志*, 2023, 39(6):487—492, 506.
- [12] 郭佳芸, 梁健宁. 金福安汤治疗肺癌的研究进展[J]. *中医肿瘤学杂志*, 2019, 1(4):83—86.
- [13] MORANA O, WOOD W, GREGORY C D. The apoptosis paradox in cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3):1328.
- [14] BERTHELOOT D, LATZ E, FRANKLIN B S. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: An intricate game of cell death [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(5):1106—1121.
- [15] SORICE M. Crosstalk of autophagy and apoptosis [J]. *Cells*, 2022, 11(9):1479.
- [16] 张磊, 赵永强, 刘公哲, 等. 非小细胞肺癌患者组织中自噬相关蛋白 Beclin1、LC3、P62 的表达水平及临床意义[J]. *临床和实验医学杂志*, 2023, 22(19):2054—2057.
- [17] 张小林, 张文静, 蒋峰, 等. 丹参多酚酸盐诱导胶质瘤细胞自噬的实验研究[J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(4):972—975.
- [18] 杨朋, 钱军, 陈文飞, 等. 木犀草素对人非小细胞肺癌 A549 细胞凋亡及自噬的影响[J]. *中成药*, 2022, 44(8):2667—2671.
- [19] LV M, YANG D, JI X, et al. Effect of WenXin KeLi on improvement of arrhythmia after myocardial infarction by intervening PI3K-AKT-mTOR autophagy pathway [J/OL]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022:2022970. 2022-09-29 [2024-10-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36212955/>.
- [20] HUAN S, SUN S, SONG S, et al. Dihydroartemisinin inhibits the activation and proliferation of hepatic stellate cells by regulating miR-29b-3p [J]. *Int J Mol Med*, 2023, 51(5):40.
- [21] YAN J, XIE Y, WANG F, et al. Carbon ion combined with tigecycline inhibits lung cancer cell proliferation by inducing mitochondrial dysfunction [J/OL]. *Life Sci*, 2020, 263:118586. 2020-12-15 [2024-10-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33065148/>.
- [22] 张良军, 蔡琪, 黄璟, 等. 复方守宫散含药血清对 PI3K/AKT/mTOR 通路介导的小鼠非小细胞肺癌细胞增殖、凋亡的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(12):3015—3020.
- [23] 张志强, 魏毅强, 杨亚莉, 等. 山慈菇多糖对肝癌腹水荷瘤小鼠症状的改善机制[J]. *西北药学杂志*, 2023, 38(3):74—80.

(收稿日期 2024-12-25)