

[文章编号] 1007-7669(2024)10-0790-06

[DOI号] 10.14109/j.cnki.xyylc.2024.10.11

毛兰素通过 cGAS-STING 通路介导的免疫调控机制对胰腺癌发生发展的影响

陈巍, 韩峥, 黄莎莎, 蔡一珊, 郭芳, 田霞

(武汉市第三医院 消化内科, 湖北 武汉 430060)

[关键词] 毛兰素; 胰腺肿瘤; 细胞增殖; 细胞迁移抑制; 环 GMP

[摘要] 目的 探讨毛兰素调节环 GMP-AMP 合成酶 (cGAS) - 干扰素基因刺激因子 (STING) 信号通路对胰腺癌发生发展的影响。方法 将人胰腺癌细胞系 SW1990 细胞分为对照组, 毛兰素低、中、高浓度 (10、20、40 nmol · L⁻¹) 组, RU.521 (cGAS 抑制剂, 1 μmol · L⁻¹) 组, 毛兰素 (40 nmol · L⁻¹) +RU.521 (1 μmol · L⁻¹) 组。CCK-8 法检测 SW1990 细胞增殖, 流式细胞术检测细胞凋亡, 划痕实验和 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭, Western blot 法检测细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、基质金属蛋白酶 (MMP)-2、MMP-9、cGAS 和 STING 蛋白表达。SW1990 细胞与自然杀伤 (NK) 细胞共培养 48 h, ELISA 法检测共培养上清中颗粒酶 B (granzyme B)、穿孔素 (PF) 水平, 检测 NK 细胞杀伤活力变化。结果 与对照组比较, 毛兰素低、中、高浓度组细胞增殖率、划痕愈合率和侵袭细胞数目减少, cyclin D1、MMP-2、MMP-9 蛋白表达降低, 细胞凋亡率升高, Bax、cGAS、STING 蛋白表达降低, 呈浓度依赖性 ($P < 0.05$); 而 RU.521 组上述指标变化趋势相反 ($P < 0.05$)。与毛兰素高浓度组相比, 毛兰素 +RU.521 组细胞增殖率、划痕愈合率和侵袭细胞数目及 cyclin D1、MMP-2、MMP-9、Bax、cGAS、STING 蛋白表达增高, 细胞凋亡率降低 ($P < 0.05$)。共培养实验中, 与对照组比较, 毛兰素低、中、高浓度组细胞上清中 granzyme B、PF 水平和 NK 细胞杀伤活力升高, 且呈浓度依赖性 ($P < 0.05$), 而 RU.521 组对应指标变化趋势相反 ($P < 0.05$); 与毛兰素高浓度组相比, 毛兰素 +RU.521 组 granzyme B、PF 水平和 NK 细胞杀伤活力降低 ($P < 0.05$)。结论 毛兰素可能通过激活 cGAS-STING 信号通路抑制胰腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭及免疫逃逸, 促进细胞凋亡。

[中图分类号] R735.9

[文献标志码] A

Impact of erianin on occurrence and development of pancreatic cancer through cGAS-STING pathway mediated immune regulation mechanism

CHEN Wei, HAN Zheng, HUANG Sha-sha, CAI Yi-shan, GUO Fang, TIAN Xia

(Department of Gastroenterology, the Third Hospital of Wuhan, Wuhan HUBEI 430060, China)

[KEY WORDS] erianin; pancreatic neoplasms; cell proliferation; cell migration inhibition; cyclic GMP

[ABSTRACT] AIM To investigate the impact of erianin on the development of pancreatic cancer by regulating cyclic GMP-AMP synthase-stimulator of interferon gene (cGAS-STING) signal pathway. METHODS SW1990 cells were divided into control group, low-, medium- and high-concentration erianin groups (10, 20, 40 nmol · L⁻¹), RU.521 (cGAS inhibitor)

[收稿日期] 2023-03-13 [接受日期] 2024-06-02

[基金项目] 湖北省卫生健康委员会科研项目 (WJ2023M129)

[作者简介] 陈巍, 男, 副主任医师, 硕士, 主要从事胆胰系统肿瘤机制的研究, E-mail: kpu8axd@163.com。田霞, 女, 主任医师, 硕士, 主要从事消化系统相关肿瘤机制的研究, E-mail: dinggvp67@163.com

[责任作者] 田霞

group ($1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), and erianin ($40 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)+RU.521 ($1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) group. The proliferation was detected by CCK-8 method, and apoptosis was detected by flow cytometry. The migration and invasion of SW1990 cells were detected by scratch test and Transwell test, respectively. Western blot was applied to detect the protein expressions of cyclin D1, Bcl-2 associated X protein (Bax), matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, cGAS and STING in SW1990 cells. SW1990 cells were co-cultured with NK cells for 48 hours, the levels of granzyme B and perforin (PF) in co-culture supernatant were detected by ELISA, and NK cell killing activity was detected. RESULTS Compared with the control group, the cell proliferation rate, the rate of scratch healing, the number of invasive cells were decreased in the low-, medium- and high-concentration erianin groups, the protein expressions of cyclin D1, MMP-2, MMP-9 were decreased, the apoptosis rate was increased, and the protein expressions of Bax, cGAS and STING were decreased in a concentration-dependent manner ($P < 0.05$), while the change trends of the above indexes in the RU.521 group were opposite ($P < 0.05$). Compared with the high-concentration erianin group, the cell proliferation rate, scratch healing rate, the number of invasive cells, and the protein expressions of cyclin D1, MMP-2, MMP-9, Bax, cGAS and STING in the erianin +RU.521 group were increased, and the apoptosis rate was decreased ($P < 0.05$). In the co-culture experiment, compared with the control group, the levels of granzyme B and PF and NK cell killing activity in the cell supernatant of the low-, medium- and high-concentration erianin groups were increased in a concentration-dependent manner ($P < 0.05$), while the change trends of corresponding indexes in the RU.521 group were opposite ($P < 0.05$). Compared with the high-concentration erianin group, the levels of granzyme B and PF and NK cell killing activity in the erianin+RU.521 group were decreased ($P < 0.05$). CONCLUSION Erianin may inhibit the proliferation, migration, invasion, and immune escape of pancreatic cancer cells and promote cell apoptosis by activating cGAS-STING signaling pathway.

胰腺癌是最致命和最具侵袭性的恶性肿瘤之一, 由于早期转移、侵袭性、耐药性和免疫逃逸等特点, 80%~85% 的胰腺癌患者在初诊时已发生局部浸润和远处转移^[1]。胰腺癌可以通过化疗、放疗和手术进行治疗, 对于晚期胰腺癌, 化疗仍然是唯一的治疗选择。然而, 目前用于治疗胰腺癌的药物由于耐受性、基因突变等问题, 疗效可能会下降^[2,3]。激活环 GMP-AMP 合成酶 (cGAS) - 干扰素基因刺激因子 (STING) 信号通路可抑制胰腺癌的发生发展^[4]。毛兰素 (erianin) 是从石斛中分离得到的具有多种抗肿瘤活性的化合物之一, 已有研究报道, 毛兰素可抑制人结肠癌细胞增殖^[5]。本研究主要探究毛兰素对胰腺癌细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭及免疫逃逸的影响及其作用机制。

材料与方法

药物、试剂和仪器 毛兰素 (规格: 20 mg, 纯度 $\geq 98\%$, 溶于 DMSO 制成相应浓度的溶液) 购自北京伊塔生物科技有限公司, cGAS 抑制剂 RU.521 购自美国 MCE 公司。CCK-8 试剂盒购自上海广锐生物科技有限公司, Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自上海锐赛生物科技 (集团) 有限公司, 人颗粒酶 B (granzyme B)、穿孔素 (perforin, PF) ELISA 试剂盒购自上海晶抗生物工程有限公司, 兔源一抗细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、基质金属蛋

白酶 (MMP)-2、MMP-9、cGAS、STING、GAPDH、辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗兔二抗均购自英国 Abcam 公司。BD FACSVerser 流式细胞仪购自广州市东和仪器科技有限公司, Multiskan FC 酶标仪购自赛默飞世尔仪器有限公司, DM1000 光学显微镜购自上海维翰光电科技有限公司。

细胞培养与分组 人胰腺癌细胞系 SW1990 购自深圳市豪地华拓生物科技有限公司。人源自然杀伤 (NK) 细胞购自优利科 (上海) 生命科学有限公司。将 SW1990 细胞在补充有 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中培养。取对数生长期的 SW1990 细胞, 参考文献并结合前期预实验结果, 将 SW1990 细胞分为对照组, 毛兰素低、中、高浓度 (10 、 20 、 $40 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组, RU.521 ($1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组, 毛兰素 ($40 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) +RU.521 ($1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组^[6,7]。对照组不作任何处理, 其余各组给予对应浓度药物处理 48 h。

细胞增殖 采用 CCK-8 法。将 SW1990 细胞以每孔 1×10^4 个的密度接种到 96 孔板中, 分组处理后, 向每孔中加入 CCK-8 溶液 $10 \mu\text{L}$, 孵育 2 h 后, 通过酶标仪测定各组 SW1990 细胞在 450 nm 处的吸光度 (A) 值。**细胞凋亡** 采用流式细胞术。分组处理后, 将各组细胞浓度调整为 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, 取细胞悬液 $100 \mu\text{L}$, 向细胞悬液中加入 Annexin V-FITC 和 PI 各 $5 \mu\text{L}$, 避光孵育 30 min 后, 检测 SW1990 细胞凋亡情况。

细胞迁移 采用划痕实验检测。将 SW1990 细胞以每

孔 1×10^5 个的密度接种于 6 孔板中, 使用药物进行分组处理, 当细胞达到 90% 汇合度时, 用 10 μ L 移液管尖端轻轻地划动细胞层, 然后用无胎牛血清的培养基继续培养细胞。利用光学显微镜观察细胞在 0、48 h 的划痕宽度, 并记录 0 h 的划痕宽度为 W_0 , 48 h 的划痕宽度为 W_{48} , 划痕愈合率 (%) = $(W_0 - W_{48}) / W_0 \times 100\%$ 。

细胞侵袭 采用 Transwell 测定。各组细胞浓度调整为 1×10^5 个 \cdot mL⁻¹, 取细胞悬液 100 μ L 置于预先涂有 Matrigel 基质胶的 Transwell 上室中, 再加入含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基 500 μ L 于 Transwell 下室中, 孵育 48 h 后, 将侵袭细胞经甲醛固定、0.5% 结晶紫溶液染色后, 利用光学显微镜观察细胞侵袭情况。

共培养实验 以 SW1990 为靶细胞, NK 细胞为效应细胞, 将 SW1990 细胞与 NK 细胞以 10:1 的比例加入 96 孔板中共培养 4 h。收集各组共培养细胞上清液。采用 ELISA 法, 严格按照试剂盒说明书操作步骤检测共培养细胞上清中 granzyme B、PF 水平。另设 SW1990 细胞单独培养、SW1990 细胞在 10 μ L 30% TritonX-100 溶液中培养和 NK 细胞单独培养对照。取上清液 50 μ L 加入新的 96 孔板中, 同时加入乳酸脱氢酶反应液 50 μ L 孵育 30 min, 再加入终止液 50 μ L 孵育 1 h 终止反应, 利用酶标仪测量 450 nm 处的 A 值。NK 细胞杀伤活力 (%) = $(A_{\text{实验组}} - A_{\text{SW1990 细胞单独培养}} - A_{\text{NK 细胞单独培养}}) / (A_{\text{SW1990 细胞在 TritonX-100 溶液中培养}} - A_{\text{SW1990 细胞单独培养}}) \times 100\%$ 。

cyclin D1、Bax、MMP-2、MMP-9、cGAS、STING 蛋白表达 采用 Western blot 法。预冷的 RIPA 裂解缓冲液用于提取 SW1990 细胞总蛋白质, 将蛋白质进行定量、电泳、转膜、封闭后, 加入一抗 cyclin D1 (1:1 000)、Bax (1:1 000)、MMP-2 (1:1 000)、MMP-9 (1:1 000)、cGAS (1:1 000)、STING (1:2 000)、GAPDH (1:2 000) 在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。次日, 加入羊抗兔二抗 (1:2 000) 在室温下孵育 1.5 h。利用 ECL 试剂检测蛋白质条带的显色情况, Image J 软件分析蛋白质条带的灰度值。

统计学分析 采用 SPSS25.0 版软件进行统计分析, 符合正态分布且方差齐的数据用均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间的差异比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-q 检验, $P < 0.05$ 表示有显著差异。

结 果

细胞增殖和凋亡 与对照组相比, 毛兰素低、中、高浓度组细胞增殖活力显著降低, 细胞凋亡率升高, 且呈浓度依赖性 ($P < 0.05$); RU.521 组细胞增殖活力升高, 细胞凋亡率降低 ($P < 0.05$)。与毛兰素高浓度组相比, 毛兰素 +RU.521 组细胞增殖活力升高, 细胞凋亡率降低 ($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

细胞迁移能力 与对照组相比, 毛兰素低、中、高浓度组细胞划痕愈合率降低, 呈浓度依赖性 ($P < 0.05$); RU.521 组细胞划痕愈合率升高 ($P < 0.05$)。与毛兰素高浓度组相比, 毛兰素 +RU.521 组细胞划痕愈合率升高 ($P < 0.05$)。见表 1、图 2。

细胞侵袭能力 与对照组比较, 毛兰素低、中、高浓度组细胞侵袭数降低, 呈浓度依赖性 ($P < 0.05$); RU.521 组细胞侵袭数升高 ($P < 0.05$)。与毛兰素高浓度组比较, 毛兰素 +RU.521 组细胞侵袭数升高 ($P < 0.05$)。见表 1、图 3。

granzyme B、PF 水平 与对照组相比, 毛兰素低、中、高浓度组共培养细胞上清中 granzyme B、PF 水平升高, 呈浓度依赖性 ($P < 0.05$); RU.521 组共培养细胞上清中 granzyme B、PF 水平降低 ($P < 0.05$)。与毛兰素高浓度组比较, 毛兰素 +RU.521 组共培养细胞上清中 granzyme B、PF 水平降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

NK 细胞杀伤活力的影响 与对照组相比, 毛兰素低、中、高浓度组 NK 细胞杀伤活力升高, 呈浓度依赖性 ($P < 0.05$); RU.521 组中 NK 细胞杀伤活力降低 ($P < 0.05$)。与毛兰素高浓度组组比较, 毛兰素 +RU.521 共培养组中 NK 细胞杀伤活力降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

cyclin D1、Bax、MMP-2、MMP-9 蛋白及 cGAS-STING

表 1 各组细胞增殖活力和凋亡率比较

$n=6, \bar{x} \pm s$

组别	增殖活力	凋亡率 /%	划痕愈合率 /%	细胞侵袭数 / 个
对照	0.96 \pm 0.08	8.93 \pm 0.58	46.24 \pm 2.07	67.75 \pm 2.76
毛兰素低浓度	0.85 \pm 0.07 ^b	15.15 \pm 0.73 ^b	37.78 \pm 1.65 ^b	54.56 \pm 2.36 ^b
毛兰素中浓度	0.73 \pm 0.06 ^{beh}	29.28 \pm 1.51 ^{beh}	29.56 \pm 1.33 ^{beh}	41.42 \pm 1.88 ^{beh}
毛兰素高浓度	0.33 \pm 0.02 ^{be}	48.83 \pm 2.21 ^{be}	14.56 \pm 0.68 ^{be}	23.36 \pm 1.05 ^{be}
RU.521	1.21 \pm 0.11 ^b	3.78 \pm 0.29 ^b	59.98 \pm 2.77 ^b	78.86 \pm 3.34 ^b
毛兰素 +RU.521	0.77 \pm 0.06 ^b	23.69 \pm 1.13 ^b	32.26 \pm 1.73 ^b	46.65 \pm 2.11 ^b

经单因素方差分析: 与对照组比较, ^b $P < 0.05$; 与毛兰素低浓度组比较, ^e $P < 0.05$; 与毛兰素高浓度组比较, ^h $P < 0.05$

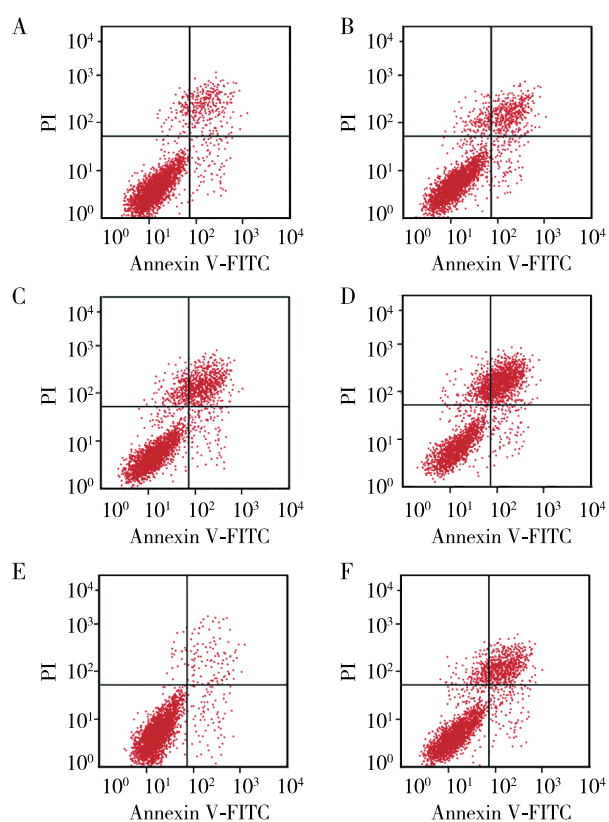


图 1 各组典型流式细胞图 A: 对照组, B: 毛兰素低浓度组, C: 毛兰素中浓度组, D: 毛兰素高浓度组, E: RU.521 组, F: 毛兰素 + RU.521 组

通路相关蛋白表达 与对照组比较, 毛兰素低、中、高浓度组 cyclin D1、MMP-2、MMP-9 蛋白表达降低, Bax、cGAS、STING 蛋白表达升高, 呈浓度依赖性 ($P < 0.05$); RU.521 组 cyclin D1、MMP-2、MMP-9 蛋白表达升高, Bax、cGAS、STING 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。与毛兰素高浓度组比较, 毛兰素 + RU.521 组 cyclin D1、MMP-2、MMP-9 蛋白表达升高, Bax、cGAS、STING 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。见图 4 和表 3。

讨论

毛兰素是一种从石斛中分离出来的天然产物, 近年来其在癌症治疗中越来越受到关注。据报道, 毛兰素可抑制肺癌细胞生长和迁移^[8]、抑制胃癌癌前病变^[9]、诱导口腔鳞状细胞癌细胞凋亡^[10]; 毛兰素恢复了细胞毒性 T 淋巴细胞杀死宫颈癌细胞的能力^[11]。以上研究表明了毛兰素具有调控肿瘤细胞增殖、凋亡、迁移及免疫逃逸的作用。cyclin D1 是一种可缩短细胞周期、加速细胞增殖的分子标志物^[12]; Bax 的表达水平与细胞凋亡能力成正比^[13]; MMP-2、MMP-9 是一组能够裂解细胞外基质成分的酶, 它们具有促进细胞迁移与侵袭的能力^[14]。本研究显示, 毛兰素可抑制 SW1990 细胞中 cyclin D1、MMP-2、

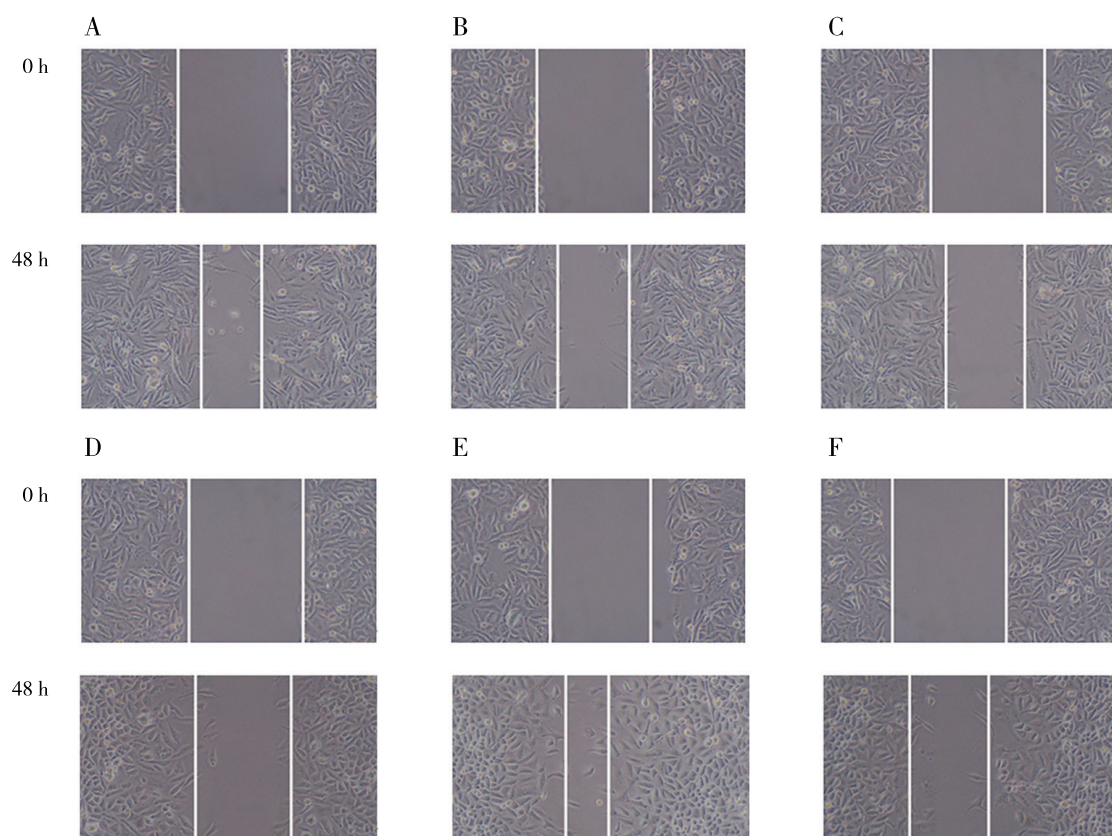


图 2 各组细胞迁移典型划痕图 A: 对照组, B: 毛兰素低浓度组, C: 毛兰素中浓度组, D: 毛兰素高浓度组, E: RU.521 组, F: 毛兰素 + RU.521 组

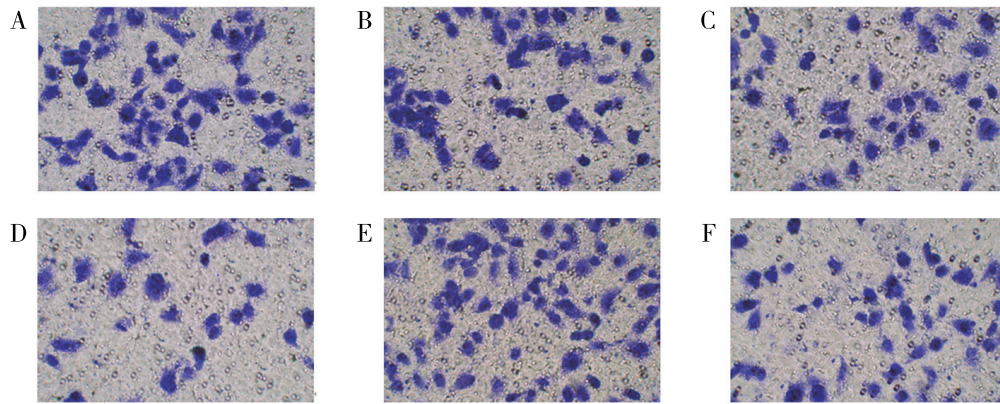


图 3 各组细胞侵袭能力典型染色图 A: 对照组, B: 毛兰素低浓度组, C: 毛兰素中浓度组, D: 毛兰素高浓度组, E: RU.521 组, F: 毛兰素 + RU.521 组

表 2 各组共培养细胞上清中 granzyme B、穿孔素 (PF) 和自然杀伤 (NK) 细胞水平比较

n=6, $\bar{x} \pm s$

组别	granzyme B/ pg · mL ⁻¹	PF/pg · mL ⁻¹	NK 细胞杀伤活力 /%
对照	1.86 ± 0.14	1.28 ± 0.10	10.26 ± 0.43
毛兰素低浓度	3.73 ± 0.15 ^b	2.23 ± 0.14 ^b	18.83 ± 0.92 ^b
毛兰素中浓度	5.96 ± 0.24 ^{bch}	2.97 ± 0.16 ^{bch}	29.96 ± 1.59 ^{bch}
毛兰素高浓度	8.95 ± 0.43 ^{bc}	4.67 ± 0.18 ^{bc}	42.26 ± 2.87 ^{bc}
RU.521	0.88 ± 0.07 ^b	0.63 ± 0.06 ^b	4.54 ± 0.26 ^b
毛兰素 +RU.521	4.56 ± 0.23 ^b	2.57 ± 0.12 ^b	24.45 ± 1.36 ^b

经单因素方差分析: 与对照组比较, ^bP<0.05; 与毛兰素低浓度组比较, ^cP<0.05; 与毛兰素高浓度组比较, ^bP<0.05

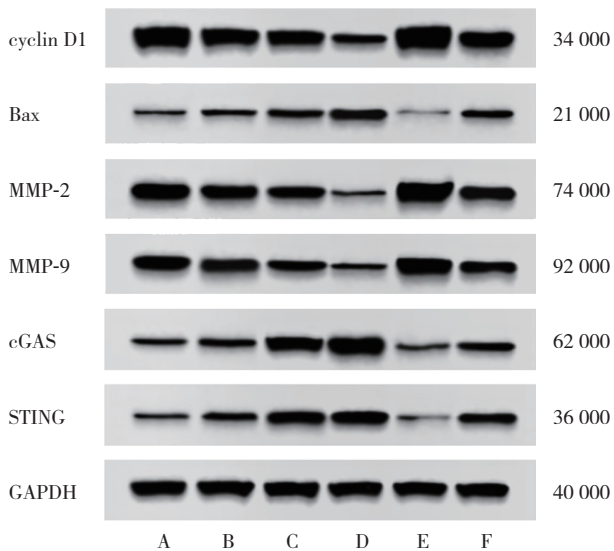


图 4 各组 cyclin D1、Bax、MMP-2、MMP-9、cGAS、STING 蛋白印迹图 A: 对照组, B: 毛兰素低浓度组, C: 毛兰素中浓度组, D: 毛兰素高浓度组, E: RU.521 组, F: 毛兰素 + RU.521 组

MMP-9 蛋白表达, 降低细胞增殖能力、划痕愈合率和侵袭细胞数目, 促进 Bax 蛋白表达, 上调细胞凋亡率, 且呈浓度依赖性, 表明毛兰素可抑制 SW1990 细胞增殖、迁移与侵袭, 促进细胞凋亡。此外, 有研究表明, 免疫逃逸参与了胰腺癌的恶性进展, 且与胰腺癌的不良预后密切相关^[15]; NK 细胞作为免疫系统重要的组成部分, 其可通过分泌 granzyme B、PF 等毒性因子发挥免疫监视进而清除肿瘤细胞^[16]。本研究显示, 毛兰素可呈浓度依赖性地促进共培养上清中 granzyme B、PF 表达, 并增强共培养体系中 NK 细胞杀伤活力, 表明毛兰素可抑制 SW1990 细胞免疫逃逸, 提示毛兰素可能成为治疗胰腺癌的潜在有效药物。

cGAS-STING 信号通路在抗肿瘤免疫中起着重要作用, 是一个潜在的抗癌免疫治疗药物靶点^[17]。据报道, 激活非小细胞肺癌中的 cGAS-STING 信号通路可促进 NK 细胞浸润和抗肿瘤免疫^[18]; 激活 cGAS-

表 3 各组 SW1990 细胞中 cyclin D1、Bax、MMP-2、MMP-9、cGAS、STING 蛋白表达比较

n=6, $\bar{x} \pm s$

组别	cyclin D1	Bax	MMP-2	MMP-9	cGAS	STING
对照	1.67 ± 0.18	0.23 ± 0.02	1.33 ± 0.12	1.13 ± 0.11	0.36 ± 0.03	0.21 ± 0.01
毛兰素低浓度	1.25 ± 0.13 ^b	0.37 ± 0.02 ^b	1.08 ± 0.09 ^b	0.87 ± 0.08 ^b	0.49 ± 0.03 ^b	0.56 ± 0.04 ^b
毛兰素中浓度	1.03 ± 0.08 ^{bch}	0.49 ± 0.04 ^{bch}	0.82 ± 0.07 ^{bch}	0.69 ± 0.06 ^{bch}	0.98 ± 0.05 ^{bch}	0.73 ± 0.06 ^{bch}
毛兰素高浓度	0.51 ± 0.05 ^{bc}	0.78 ± 0.06 ^{bc}	0.26 ± 0.03 ^{bc}	0.31 ± 0.03 ^{bc}	1.46 ± 0.13 ^{bc}	1.16 ± 0.12 ^{bc}
RU.521	2.26 ± 0.19 ^b	0.12 ± 0.01 ^b	1.66 ± 0.13 ^b	1.36 ± 0.11 ^b	0.22 ± 0.02 ^b	0.13 ± 0.01 ^b
毛兰素 +RU.521	1.18 ± 0.11 ^b	0.43 ± 0.03 ^b	0.95 ± 0.08 ^b	0.78 ± 0.07 ^b	0.53 ± 0.05 ^b	0.65 ± 0.05 ^b

经单因素方差分析: 与对照组比较, ^bP<0.05; 与毛兰素低浓度组比较, ^cP<0.05; 与毛兰素高浓度组比较, ^bP<0.05

STING 通路抑制了胃癌细胞增殖、迁移和免疫逃逸^[19]。为了验证该推测,本研究加入 cGAS 抑制剂 RU.521 干预 SW1990 细胞,结果显示,与对照组比较,RU.521 组 SW1990 细胞中 cGAS、STING 蛋白表达降低,SW1990 细胞增殖、迁移、侵袭及免疫逃逸能力增强,细胞凋亡能力减弱,表明 cGAS-STING 通路确实参与了 SW1990 细胞增殖、迁移、侵袭、免疫逃逸及凋亡过程。毛兰素可浓度依赖性地上调 SW1990 细胞中 cGAS、STING 蛋白表达,而 RU.521 减弱了高剂量毛兰素对 SW1990 细胞增殖、迁移、侵袭、免疫逃逸的抑制作用,提示毛兰素可能通过激活 cGAS-STING 通路抑制 SW1990 细胞增殖、迁移、侵袭及免疫逃逸,促进细胞凋亡。

综上所述,毛兰素可能通过激活 cGAS-STING 通路抑制 SW1990 细胞增殖、迁移、侵袭及免疫逃逸,促进细胞凋亡。未进行体内实验进一步验证结论是本研究的不足之一,后期将会进一步深入探究。

[参考文献]

- [1] LI QW, MA LF, LIU CB, *et al.* Cinobufacini inhibits the development of pancreatic cancer cells through the TGF β /Smads pathway of pancreatic stellate cells [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022 (1): 3719857–3719864.
- [2] LIMBU KR, CHHETRI RB, OH YS, *et al.* Mebendazole impedes the proliferation and migration of pancreatic cancer cells through SK1 inhibition dependent pathway [J]. *Molecules*, 2022, 27(23): 8127–8140.
- [3] PARK W, CHAWLA A, O'REILLY EM. Pancreatic cancer: a review [J]. *JAMA*, 2021, 326 (9): 851–862.
- [4] SU C, LIU S, MA X, *et al.* The effect and mechanism of erianin on the reversal of oxaliplatin resistance in human colon cancer cells [J]. *Cell Biol Int*, 2021, 45 (12): 2420–2428.
- [5] MOHSENI G, LI J, ARISTON GABRIEL AN, *et al.* The function of cGAS-STING pathway in treatment of pancreatic cancer [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 781032.
- [6] DONG H, WANG M, CHANG C, *et al.* Erianin inhibits the oncogenic properties of hepatocellular carcinoma via inducing DNA damage and aberrant mitosis [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 182 (1): 114266–114318.
- [7] PONS BJ, PETTES-DULER A, NAYLIES C, *et al.* Chronic exposure to Cytotoxic Distending Toxin (CDT) promotes a cGAS-dependent type I interferon response [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78 (17-18): 6319–6335.
- [8] CHEN P, WU Q, FENG J, *et al.* Erianin, a novel dibenzyl compound in *Dendrobium* extract, inhibits lung cancer cell growth and migration via calcium/calmodulin-dependent ferroptosis [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5 (1): 51–61.
- [9] WANG Y, CHU F, LIN J, *et al.* Erianin, the main active ingredient of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl, inhibits precancerous lesions of gastric cancer (PLGC) through suppression of the HRAS-PI3K-AKT signaling pathway as revealed by network pharmacology and *in vitro* experimental verification [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 279 (1): 114399–114410.
- [10] CHEN YT, HSIEH MJ, CHEN PN, *et al.* Erianin induces apoptosis and autophagy in oral squamous cell carcinoma cells [J]. *Am J Chin Med*, 2020, 48 (1): 183–200.
- [11] YANG A, LI MY, ZHANG ZH, *et al.* Erianin regulates programmed cell death ligand 1 expression and enhances cytotoxic T lymphocyte activity [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 273 (1): 113598.
- [12] 樊燕青, 孙兰池, 李大鹏. 茯苓酸对舌鳞状细胞癌细胞 CAL-27 增殖、凋亡及细胞周期的影响 [J]. *中成药*, 2021, 43 (7): 1909–1914. FAN YQ, SUN LC, LI DP. Effect of pachymaric acid on proliferation, apoptosis and cell cycle of tongue squamous cell carcinoma cell CAL-27 [J]. *Chin Patent Med*, 2021, 43 (7): 1909–1914.
- [13] SHAN H, LI X, OUYANG C, *et al.* Salidroside prevents PM2.5-induced BEAS-2B cell apoptosis via SIRT1-dependent regulation of ROS and mitochondrial function [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 231 (1): 113170–113185.
- [14] BAKSHI J, GOYAL AK, SINGH V, *et al.* Stage-specific expression analysis of MMP-2 & MMP-9 in laryngeal carcinoma [J]. *J Cancer Res Ther*, 2020, 16 (3): 517–520.
- [15] 张沙沙, 贾军梅. 肿瘤微环境对胰腺癌发生发展影响机制的研究进展 [J]. *山东医药*, 2021, 61 (8): 101–104. ZHANG SS, JIA JM. Research progress of the mechanism of tumor microenvironment on the occurrence and development of pancreatic cancer [J]. *Shandong Med J*, 2021, 61 (8): 101–104.
- [16] 吴旻, 王军, 郭夏, 等. MYCN 通过抑制 NK 细胞介导神经母细胞瘤细胞免疫逃逸机制研究 [J]. *中华小儿外科杂志*, 2022, 43 (10): 874–883. WU M, WANG J, GUO X, *et al.* Study on the immune escape mechanism of neuroblastoma cells mediated by MYCN through inhibition of NK cells [J]. *Chin J Pediatric Surg*, 2022, 43 (10): 874–883.
- [17] ZHANG X, BAI XC, CHEN ZJ. Structures and mechanisms in the cGAS-STING innate immunity pathway [J]. *Immunity*, 2020, 53 (1): 43–53.
- [18] YAN X, YAO C, FANG C, *et al.* Rocaglamide promotes the infiltration and antitumor immunity of NK cells by activating cGAS-STING signaling in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18 (2): 585–598.
- [19] YUAN M, GUO XL, CHEN JH, *et al.* Anlotinib suppresses proliferation, migration, and immune escape of gastric cancer cells by activating the cGAS-STING/IFN- β pathway [J]. *Neoplasma*, 2022, 69 (4): 807–819.