DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.09.031

基于角蛋白19调控的上皮-间质转化与耐药探讨参芪扶正注射液对肺腺癌A549/DDP细胞增殖、侵袭、迁移的影响

刘兵[1],文晓晨[1],冯秀芝[1],孙冶[2],王淳[1]
(1.辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110847;2.沈阳医学院,辽宁 沈阳 110034)

摘要:目的 探讨参芪扶正注射液对人肺腺癌顺铂耐药细胞(A549/DDP)增殖、侵袭、迁移的影响及对角蛋白19(Keratin,KRT19)调控的上皮-间质转化(Epithelial-mesenchymal transition,EMT)与耐药的干预作用。方法 肺腺癌顺铂耐药细胞株A549/DDP随机分为4组,对照组及药物干预组,分别给予顺铂、参芪扶正注射液及参芪扶正注射液+顺铂干预;CCK-8筛选参芪扶正注射液最佳干预浓度;Transwell检测细胞侵袭和迁移能力;EdU染色检测细胞增殖能力;Western Blot检测KRT19,EMT相关蛋白E-钙黏蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)及耐药相关蛋白ATP结合盒转运超家族多药耐药相关蛋白1(multidrug resistance-associated protein 1,ABCC1)、ABC蛋白G超家族成员2(ATP-binding cassette superfamily G member 2,ABCG2)的表达。结果 与对照组相比,药物干预组细胞侵袭、迁移、增殖能力均显著降低,其中,参芪扶正注射液+顺铂组均较顺铂组细胞侵袭数、迁移数、增殖能力进一步下降($P<0.05$);与顺铂组相比,参芪扶正注射液+顺铂组KRT19、N-cadherin、Vimentin、ABCC1、ABCG2蛋白表达显著下调($P<0.05$),E-Cadherin蛋白表达显著上调,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 参芪扶正注射液可抑制A549/DDP细胞增殖、侵袭、迁移能力,提高顺铂敏感性,可能与干预KRT19调控的EMT与耐药有关。

关键词:参芪扶正注射液;肺腺癌;侵袭迁移;EMT;耐药
中图分类号:R273.42 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)09-0169-07

Effect of Shenqi Fuzheng Injection(参芪扶正注射液) on Proliferation, Invasion and Migration of Lung Adenocarcinoma A549/DDP Cells Based on EMT and Drug Resistance Regulated by KRT19

LIU Bing[1], WEN Xiaochen[1], FENG Xiuzhi[1], SUN Ye[2], WANG Chun[1]
(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning, China;
2. Shenyang Medical College, Shenyang 110034, Liaoning, China)

Abstract: *Objective* To investigate the effects of Shenqi Fuzheng Injection(参芪扶正注射液) on the proliferation, invasion and migration of cisplatin-resistant A549/DDP cells of human lung adenocarcinoma and the intervention on the epithelial-mesenchymal transition(EMT) and drug resistance regulated by Keratin(KRT19). *Methods* A549/DDP cells were randomly divided into 4 groups(control group and medication group). The medication groups were given cisplatin, Shenqi Fuzheng Injection and Shenqi Fuzheng Injection + cisplatin intervention respectively. CCK8 was used to selected the optimal intervention concentration of Shenqi Fuzheng Injection. Transwell was used to observe the cell invasion and migration ability. EdU staining was used to observe the cell proliferation ability. The expressions of KRT19, EMT and resistance-associated proteins(E-Cadherin, N-cadherin, Vimentin, ABCC1, ABCG2) were detected by Western Blot. *Results* Compared with those in the control group, the cell invasion, migration and proliferation abilities in the medication intervention group were significantly reduced. Among them, the cell invasion, migration and proliferation abilities in the Shenqi Fuzheng Injection + cisplatin group were further decreased than those in the cisplatin group($P<0.05$). Compared with those of the cisplatin group, the protein expression levels of KRT19, N-cadherin, Vimentin, ABCC1 and ABCG2 in the Shenqi Fuzheng Injection + cisplatin group were significantly down-regulated($P<0.05$), and E-Cadherin protein expression was significantly up-regulated($P<0.05$). The differences were statistically significant. *Conclusion* Shenqi Fuzheng Injection can inhibit the proliferation, invasion and migration of A549/DDP cells, and increase the sensitivity of cisplatin, which may be related to the intervention of EMT and drug resistance regulated by KRT19.

Keywords: Shenqi Fuzheng Injection; lung adenocarcinoma; invasion and migration; EMT; drug resistance

---

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82174254);国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目(zyyzdxk-2023034);辽宁省自然科学基金面上项目(2024-MSLH-288);辽宁省教育厅青年项目(LJKQZ20222412);辽宁省科技厅博士启动项目(2023-BSBA-220,2023-BSBA-224);辽宁中医药大学中西医结合学院"岐济"科研创新团队打造计划项目(2023QJ01001);辽宁中医药大学中西医结合学院"岐济"英才支撑计划项目(2024QJ03001)
作者简介:刘兵(1990-),女(蒙古族),辽宁沈阳人,讲师,博士在读,研究方向:中医药抗肿瘤基础。
通讯作者:王淳(1971-),女,辽宁沈阳人,教授,博士研究生导师,研究方向:中医药抗肿瘤基础。E-mail:1205055348@qq.com。

肺腺癌是非小细胞肺癌的主要类型,而非小细胞肺癌占据所有肺癌发病率的 85%[1]。研究发现,大部分肿瘤患者死于肿瘤的转移和复发,那么抑制肿瘤细胞侵袭迁移是肺癌防治的关键。研究已发现肿瘤细胞骨架及其调控系统的形成对其侵袭和迁移至关重要,如中间丝角蛋白 19(Keratin,KRT19)、微丝蛋白 FLNA 等可通过肌动蛋白的反复聚合与解聚,应力纤维的形成,转化细胞形态,调节细胞骨架运动,进而影响肿瘤细胞的侵袭和迁移[2-3]。目前铂类化疗常作为肺癌临床基础治疗和术后辅助治疗方式,但越来越多的患者出现耐药性[4],而且这种铂类药物耐药性还可造成患者对其他不同药理机制的化学药物包括分子靶向药物的敏感性降低[5],这严重影响了肺癌的临床疗效。肿瘤耐药是多因素多途径综合作用的结果,主要涉及细胞内药物蓄积减少,如 ATP 结合盒转运超家族多药耐药相关蛋白 1(multidrug resistance - associated protein 1,ABCC1)、ABC 蛋白 G 超家族成员 2(ATP - binding cassette superfamily G member 2,ABCG2)、P - 糖蛋白(P - glycoprotein,P - gp)等增加化疗药物外排[6]。此外近年发现,肿瘤耐药与肿瘤细胞发生上皮 - 间质转化(Epithelial - mesenchymal transition,EMT)密切相关[7]。肿瘤的 EMT 过程涉及上皮细胞连接的丢失,细胞骨架的重组和蛋白分子标志物的改变,如上皮细胞标志物 E - 钙黏蛋白(E - cadherin)等表达下调;波形蛋白(Vimentin)、N - 钙黏蛋白(N - cadherin)等表达上调等。

参芪扶正注射液(Shenqi Fuzheng Injection,SFI)(党参和黄芪的水提物)具有抗肿瘤的特性,包括细胞周期调节、细胞凋亡、免疫活性调节等多种生物学途径[8-9]。临床发现,参芪扶正注射液对肺癌、胃癌、结直肠癌等多种肿瘤细胞都具有显著抑瘤作用,并且联合化疗药物可增强其抗肿瘤效果发挥协同作用[10-11],故本研究拟以肺腺癌顺铂耐药细胞株 A549/DDP 为研究对象,观察参芪扶正注射液对其侵袭、迁移、增殖的影响及其对 KRT19 调控的 EMT 与耐药的干预作用,探讨参芪扶正注射液抗肿瘤的潜在分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验试剂 顺铂(cisplatin,cis - diamminedichloroplatinum,CDDP)(P4393,Sigma);参芪扶正注射液 SFI(210516,广州珠海丽珠制药,批准文号:国药准字 Z19990065);F - 12K(21127022,Gibco);胎牛血清 FBS(10270 - 106,Gibco);胰酶(0458,Amresco);RIPA 裂解液(P0013C,碧云天生物技术有限公司);4% 多聚甲醛(P1110,Solarbio);结晶紫染色液(C0121,碧云天生物技术有限公司);24 孔板(3524,Corning);96 孔板(3599,Corning);CCK - 8(40203ES76,翊圣);Transwell(3422,Corning);BD Matrigel TM Basement Membrane matrix ™(356234,Corning);cytokeratin 19(sc - 53258,Santa cruz)、E - cadherin(3195s,CST)、N - cadherin(13116s,CST)、Vimentin(5741s,CST)、ABCC1(67228 - 1 - lg,Proteintech)、ABCG2(27286 - 1 - AP,Proteintech);Hoechst(E607329,生工);EdU 检测试剂盒(C0075S,碧云天生物技术有限公司)。

1.2 仪器设备 荧光显微镜(DMi8,Leica);共聚焦显微镜(SP8,Leica);超净工作台(JB - CJ - 1500FX,佳宝);CO_2 培养箱(311,Thermo);低速离心机(L2 - 6K,上海可成);血球计数板 Bright Line counting chamber(1492,Hausser Scientific);水浴锅(HWS12,上海一恒);酶标仪(Spark 10M,TECAN);垂直蛋白电泳仪和蛋白转印装置(Mini - PROTEAN Tetra Cell Systems,美国 Bio - Rad 公司);全自动化学发光成像分析系统(Tanon - 5200,上海天能科技有限公司)。

1.3 细胞株与细胞培养 人肺腺癌顺铂耐药细胞株(A549/DDP)购自北京协和细胞资源中心,细胞培养条件为 F - 12K + 10% FBS + 1% P/S,37 ℃,5% CO_2。细胞分组如下:(1)Control:对照组;(2)CDDP:顺铂组(23.3 μmol/L);(3)SFI:参芪扶正注射液组(30.94 g·L^{-1});(4)CDDP + SFI:顺铂(23.3 μmol/L) + 注射液(30.94 g·L^{-1})。

1.4 CCK - 8 筛选药物浓度 收集对数生长期的 A549/DDP 细胞,配制成单细胞悬液 5×10^4 cell/mL 后,接种于 96 孔板,每孔铺 100 μL 细胞,即 5000 cell/well。待贴壁后弃原培养基,加入参芪扶正注射液 0、5、10、20、30、40、50 g·L^{-1} 和顺铂(23.3 μmol/L)。对照组和空白组(无细胞)加入 100 μL 培养基,每个样品设 6 个复孔,边缘孔加 100 μL 无菌水。37 ℃,5% CO_2 培养箱中培养 24 h 后加入 CCK - 8 处理,酶标仪检测 450 nm OD 值。计算细胞抑制率(%) = [1 - (OD 实验组 - OD 空白组)/(OD 对照组 - OD 空白组)] × 100%。

1.5 Transwell 侵袭实验 用 4 ℃预冷的无血清培养基稀释基质胶,在 chamber 上室加入 100 μL 稀释后的基质胶,37 ℃温育使其干成胶状。用无血清培养基将小室浸润,收集各组细胞用无血清 F - 12K 培养基重悬至 2.0×10^5 cells/mL。每个样品取 100 μL,即 2×10^4 cells/well,加入到小室中,培养板下室中每孔加入 500 μL 完全培养基,每组设置 3 个复孔,实验重复 3 次;37 ℃,5% CO_2 培养箱中培养 48 h。加入 4% 多聚甲醛固定 15 min。结晶紫染色 20 min,显微镜镜下观察拍照。

1.6 Transwell 迁移实验 无需在 Transwell 上室内铺基质胶,其余步骤同 1.5。

1.7 EdU 染色检测细胞增殖 EdU 标记细胞完成后,去除培养液,加入 4% 多聚甲醛固定,并用 0.3% Triton X - 100 渗透,加入 Click 反应液均匀覆盖样品。室温避光孵育 30 min。加入 Hoechst 对细胞核进行复染,荧光显微镜拍照。蓝色荧光代表检测到的细胞总数,红色荧光代表增殖细胞。细胞增殖率 = 红色荧光细胞数/蓝色荧光细胞数 × 100%。

1.8 Western blot 检测 KRT19、EMT 及耐药相关蛋白表达 提取各组细胞蛋白,BCA 法蛋白定量,经 10% SDS - PAGE 凝胶电泳湿转法,转印蛋白至 PVDF 膜,分别经 5% 脱脂奶粉封闭、一抗孵育(KRT19 1∶200;E - Cadherin、N - Cadherin、Vimentin、ABCC1、ABCG2 1∶1000)及二抗孵育后,ECL 化学发光试剂盒标记,应用全自动荧光凝胶成像分析系统曝光、分析图片。

1.9 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件处理,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,应用单因素方差分析(One - Way ANOVA)进行分析,$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 参芪扶正注射液对 A549/DDP 细胞活性的影响 基于课题组前期研究结果,顺铂干预 A549/DDP 细胞 IC_{20} 为 23.3 μmol/L[12],因此,本研究采用 23.3 μmol/L 顺铂联合参芪扶正注射液 0、5、10、20、30、40、50 g·L^{-1} 处理 A549/DDP 细胞 24 h,CCK - 8 结果显示,随着参芪扶正注射液药物干预浓度增加,A549/DDP 细胞抑制率逐渐升高,且呈现剂量依赖。参芪扶正注射液联合 23.3 μmol/L 顺铂干预 A549/DDP 细胞 24 h

的 IC_{50} 为 30.94 g·L^{-1}。因此，设置参芪扶正注射液（30.94 g·L^{-1}）浓度进行后续实验。见图 1。

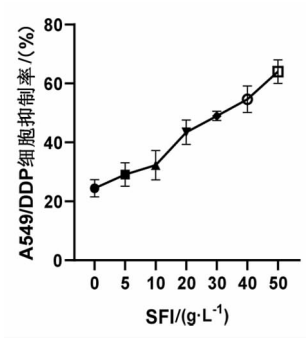


图 1 参芪扶正注射液联合顺铂对 A549/DDP 细胞活性的影响（$n=3, \bar{x} \pm s$）

2.2 参芪扶正注射液对 A549/DDP 细胞侵袭能力的影响 A549/DDP 细胞在 CDDP（顺铂 23.3 μmol/L）、SFI（参芪扶正注射液 30.94 g·L^{-1}）或 CDDP + SFI 处理后，Transwell 实验发现，与 Control 组相比，药物干预组细胞侵袭细胞数降低，与 CDDP 组相比，CDDP + SFI 组细胞侵袭细胞数进一步降低，差异具有统计学意义（$P<0.000\ 1$）。见插页ⅩⅩⅩⅢ图 2。

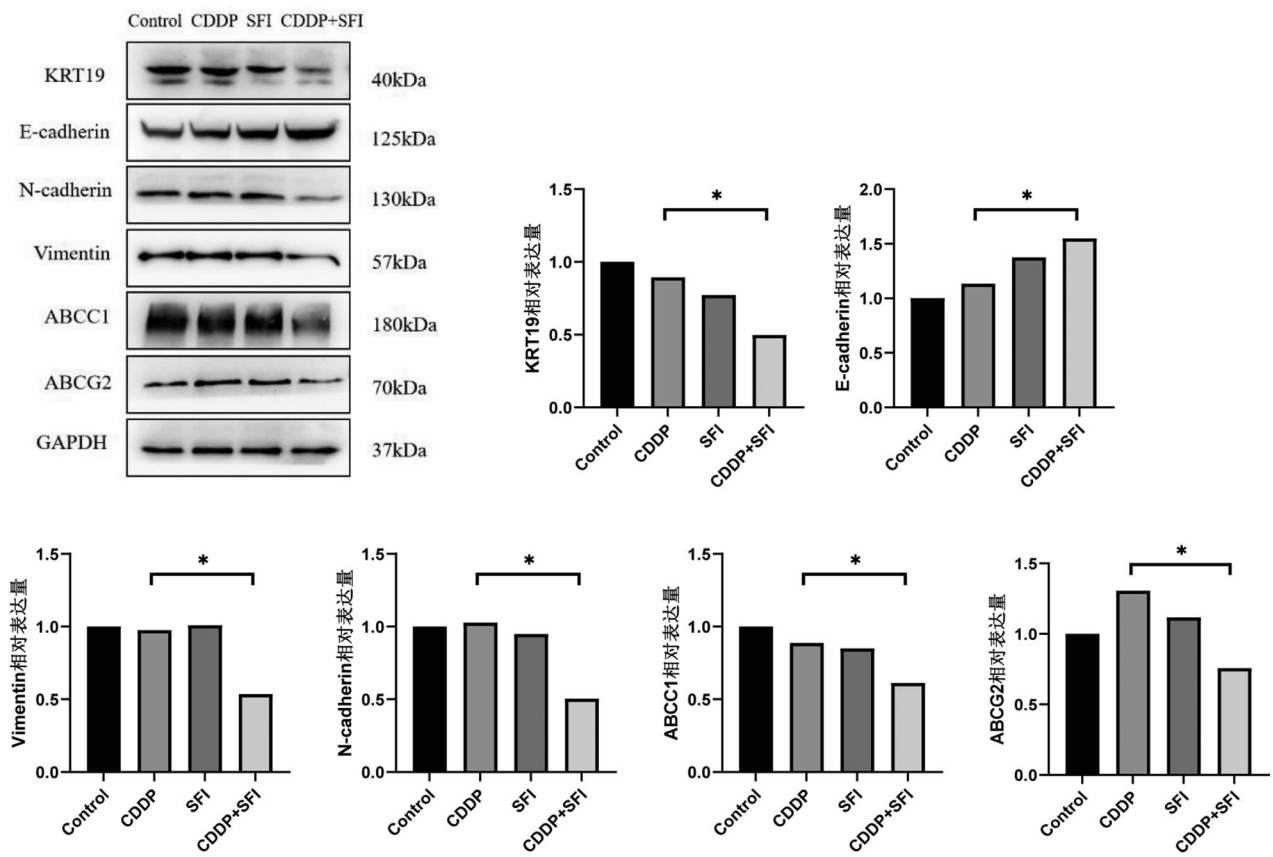
2.3 参芪扶正注射液对 A549/DDP 细胞迁移能力的影响 与 Control 组相比，药物干预组细胞迁移细胞数降低，与 CDDP 组相比，CDDP + SFI 组细胞迁移细胞数进一步降低，差异具有统计学意义（$P<0.000\ 1$）。见插页ⅩⅩⅩⅢ图 3。

2.4 参芪扶正注射液对 A549/DDP 细胞增殖能力的影响 与 Control 组相比，各药物干预组细胞增殖能力均有所下降，且 CDDP + SFI 组 A549/DDP 细胞的增殖能力下降最为显著（$P<0.05$）。见插页ⅩⅩⅩⅣ图 4。

2.5 参芪扶正注射液对 KRT19、EMT 及耐药相关蛋白表达的影响 Western blot 结果显示，与 Control 组相比，各药物干预组细胞 KRT19 均有所下调，与 CDDP 组相比，CDDP + SFI 组细胞 KRT19 表达显著下调，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与 Control 组相比，CDDP 组细胞耐药蛋白 ABCG2 表达上调，CDDP + SFI 组细胞 N－cadherin、Vimentin、ABCC1、ABCG2 表达显著下调，E－Cadherin 表达显著上调；与 CDDP 组相比，CDDP + SFI 组细胞 N－cadherin、Vimentin、ABCC1、ABCG2 表达显著下调，E－Cadherin 表达显著上调，且差异均具有统计学意义（$P<0.05$）。见图 5。

3 讨论

中医学认为肺癌属“肺积”“息贲”“痞癖”等范畴，其发生主要与气虚有关，尤其是肺脾气虚。《素问·评热病论篇》云“邪之所凑，其气必虚”。肺癌耐药的患者由于病久肺气本虚，邪踞胸中日久更伤肺气，肺气亏虚，子病及母，累及脾胃[13]。且化疗药物易克伐脾阳伤及正气，易产生耐药。《素问·五脏生成篇》：“积之成也，正气不足，而后邪气据之”。临床实践表明，肺癌患者化疗后常出现正气虚弱，气血不足的症状，故改善肺癌耐药当以扶正益气为主[14]，健运养血，升阳固表，扶助正气，解毒散结。《素问·刺法论篇》云：“正气存内，邪不可干”。



注：* $P<0.05$。

图 5 参芪扶正注射液对 A549/DDP 细胞 KRT19/EMT 及耐药相关蛋白表达的影响（$n=3, \bar{x} \pm s$）

参芪扶正注射液是益气扶正经典方药,具有补虚中气、补血生津的功效。临床试验研究表明,参芪扶正注射液可提高患者生存质量、延长生存期,有效改善肺癌耐药,提高肺癌临床疗效[15-16]。因此,本研究立足分子信号转导网络,探究扶正益气方所发挥作用的本质,及其细胞生物分子之间相互作用调控规律。

肿瘤耐药分子机制复杂,主要涉及细胞内药物蓄积减少、细胞凋亡抑制、DNA 损伤修复功能增强、细胞干性重塑、细胞骨架异常等[17]。中间丝是细胞骨架的重要组成部分,参与细胞骨架系统的变化,如顶端收缩、肌动蛋白应力纤维的形成,以及细胞形态从立方形向更长的纺锤形转化,使之具有前后极性,导致肿瘤细胞的运动性增加[18]。研究发现中间丝蛋白 KRT19 通过底物依赖的方式调节细胞形状来抑制肿瘤细胞运动[19];降低 KRT19 的表达可破坏肝祖细胞/胆道表型,使人肝癌细胞在体外对阿霉素、氟尿嘧啶和索拉非尼等细胞毒性药物更敏感[2];KRT19$^+$肝癌细胞对 5-氟尿嘧啶的抗性明显高于 KRT19$^-$细胞[20]。细胞膜 ABC 转运体可通过 ATP 主动转运多种底物保护细胞而诱发多药耐药,使肿瘤细胞对化学治疗产生耐药性。本研究发现参芪扶正注射液可以下调 KRT19 及耐药蛋白 ABCC1、ABCG2 的表达,抑制 A549/DDP 细胞增殖能力,并且联合顺铂干预可以显著提高顺铂的抑制作用。而 ABC 转运体与肝癌细胞中 KRT19 表达共定位,KRT19 是肝癌恶性转化、侵袭的重要因素[21]。因此推测参芪扶正注射液可能通过下调 KRT19,也影响了 ABC 家族蛋白细胞膜的定位,使得肿瘤细胞对化疗药物的外排减少增强了化疗药物的作用发挥,从而逆转了耐药。

EMT 是指上皮细胞表型向间质细胞表型转变,细胞失去极性,活动能力增强,并获得了浸润和转移能力。研究表明 EMT 可赋予肿瘤细胞恶性特征,包括侵袭、干性以及对化疗耐药性等[22]。肿瘤细胞在产生获得性耐药的过程中有间质化的趋势,而本身具有间质分化状态的肿瘤细胞也常表现为原发性耐药的特点,已有研究发现胰腺癌、乳腺癌、头颈部鳞癌、卵巢癌、结肠癌等多种肿瘤耐药过程与 EMT 存在密切的联系[23-26]。研究发现,在人肝细胞癌中,KRT19 是肿瘤细胞启动 EMT 及侵袭转移的关键因素和预后不良的标志[20],KRT19$^+$肝癌细胞在体内外均具有肿瘤干细胞特性[27]。那么 EMT 会导致多种癌症类型的化疗耐药性,也就有可能成为克服化疗耐药性的潜在靶点。因此本研究选择肺腺癌顺铂耐药细胞株进行体外验证参芪扶正注射液对肺腺癌生物学功能的影响,结果发现,参芪扶正注射液可以抑制 A549/DDP 细胞侵袭、迁移能力,并且可显著增强顺铂抗肿瘤的作用。肿瘤的 EMT 过程重要的标志性变化是上皮细胞间黏附蛋白 E-cadherin 表达的降低或丢失,间质细胞标志物 Vimentin 表达的增多。本研究发现,参芪扶正注射液不仅可以下调细胞骨架蛋白 KRT19 的表达,还可下调 A549/DDP 细胞中 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达,上调 E-Cadherin 蛋白表达,并且可加强顺铂对上述蛋白的调节作用,提示参芪扶正注射液可能通过干预 KRT19 调控的细胞骨架重塑过程而抑制 EMT 进程,如顶端-基底极性的丧失,上皮细胞细胞间连接分子 E-cadherin 分泌合成增加,失去细胞骨架相关蛋白 N-cadherin、Vimentin 等,增加了细胞间黏附,稳定细胞形态,抑制细胞侵袭和迁移能力,提高顺铂抗肿瘤的敏感性,从而抑制肿瘤的发生发展。

综上所述,参芪扶正注射液能够抑制人肺腺癌顺铂耐药 A549/DDP 细胞侵袭、迁移和增殖,提高顺铂抗肿瘤敏感性,可能与干预中间丝蛋白 KRT19 重塑细胞骨架过程,深入参与 EMT 的启动和进展,调控肿瘤细胞耐药有关。本研究为参芪扶正注射液抗肿瘤应用丰富理论依据,但中药复方/制剂多靶点的干预作用,其分子机制有待进一步探明。

参考文献

[1] GAMERITH G, KOCHER F, RUDZKI J, et al. ASCO 2018 NSCLC highlights - combination therapy is key[J]. Memo, 2018, 11(4): 266-271.
[2] GOVAERE O, KOMUTA M, BERKERS J, et al. Keratin 19: a key role player in the invasion of human hepatocellular carcinomas[J]. Gut, 2014, 63(4): 674-685.
[3] ZHOU J, WU L Y, XU P Y, et al. Filamin A is a potential driver of breast cancer metastasis *via* regulation of MMP-1[J]. Front Oncol, 2022, 12: 836126.
[4] WU J J, LIN Z H. Non-small cell lung cancer targeted therapy: drugs and mechanisms of drug resistance[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(23): 15056.
[5] KUROKAWA M, ISE N, OMI K, et al. Cisplatin influences acquisition of resistance to molecular-targeted agents through epithelial-mesenchymal transition-like changes[J]. Cancer Sci, 2013, 104(7): 904-911.
[6] XIAO H, ZHENG Y C, MA L L, et al. Clinically-relevant ABC transporter for anti-cancer drug resistance[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 648407.
[7] WOOD S L, PERNEMALM M, CROSBIE P A, et al. The role of the tumor-microenvironment in lung cancer-metastasis and its relationship to potential therapeutic targets[J]. Cancer Treat Rev, 2014, 40(4): 558-566.
[8] 王彤歆, 韩依影, 张凝, 等. 参芪扶正注射液辅助抗肿瘤作用及机制研究进展[J]. 中医药导报, 2021, 27(8): 120-122, 127.
[9] 廖巧, 邢蓉. 参芪扶正注射液的药理作用和临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2016, 27(24): 3455-3456.
[10] 李玮, 杨永丽, 胡佳佳, 等. 参芪扶正注射液联合含铂双药化疗治疗晚期非小细胞肺癌的疗效评价[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(3): 299-303.
[11] 李旭, 郑玉杰, 邹文静, 等. 基于网络药理学探讨参芪扶正注射液治疗原发性肝癌的作用网络与机制预测[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(17): 1371-1379.
[12] SUN Y, CHEN Y S, XU M, et al. Shenmai injection supresses glycolysis and enhances cisplatin cytotoxicity in cisplatin-resistant A549/DDP cells *via* the AKT-mTOR-c-myc signaling pathway[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 9243681.
[13] 田建辉. 中医药扶正调控免疫防治肺癌[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2023, 30(11): 943.
[14] 杨涛, 李忠, 郝力争, 等. 基于真实世界的扶正固摄法治疗非小细胞肺癌患者生存分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(9): 188-195.
[15] 刘效栓, 李喜香. 中药注射剂临床合理使用手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 81-82.
[16] 卞正航, 单渝菲, 崔琳晗, 等. 参芪扶正注射液抗肿瘤机制研究进展[J]. 新中医, 2022, 54(9): 152-157.

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.09.032

左归丸调节 JAK2－STAT3 信号通路在产前应激子鼠视网膜发育中的作用

喻小明[1,2],田文静[1],江晓翠[2,3],邹悦[4],陈思易[5],张玮珩[1],萧闵[2,3]
(1.湖北中医药大学基础医学院,湖北 武汉 430065;2.湖北中医药大学时珍实验室,湖北 武汉 430065;
3.湖北中医药大学实验动物中心,湖北 武汉 430065;4.湖北中医药大学体育健康学院,湖北 武汉 430065;
5.湖北中医药大学中医学院,湖北 武汉 430065)

摘要:目的 探讨左归丸调节 Janus 蛋白酪氨酸激酶 2(Janus kinase 2,JAK2)/信号转导子和转录激活子 3(signal transducer and activator of trans cription 3,STAT3)信号通路在产前应激(prenatal stress,PS)子鼠视网膜发育中的作用。方法 制备 SD 孕鼠 32 只,随机分为空白对照组、模型组、左归丸组(18.9 g·kg^{-1})、维生素 E 组(1.44 mg·kg^{-1}),每组 8 只;除空白对照组以外,其余各组均采用慢性不可预测轻度应激法(chronic unpredictable mild stress,CUMS)建立 PS 孕鼠模型。通过行为学测试评估 PS 孕鼠模型;酶联免疫吸附实验(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)检测血清糖皮质激素(glucocorticoids,GC)和血清甲状腺素 4(thyroxine 4,T4)含量;苏木精－伊红(hematoxylin eosin,HE)染色观察胚胎 18 d(E18)、出生当天(P0)、出生 21 d(P21)子鼠视网膜形态变化;免疫荧光检测子鼠视网膜表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)蛋白表达;蛋白免疫印迹法(Western blot,WB)检测子鼠视网膜组织 EGFR、JAK2/STAT3 通路相关蛋白表达;结果 与空白对照组比较,模型组孕鼠糖水偏爱度、运动探索能力、血清 T4 含量均降低,GC 水平升高($P<0.05$);与模型组比较,左归丸组与维生素 E 组孕鼠糖水偏爱度、运动探索能力、T4 水平升高,GC 水平降低($P<0.05$);模型组子鼠在 E18 和 P0 视网膜分化滞后,P21 视网膜病理损伤严重,EGFR 阳性信号减弱,视网膜组织 p－EGFR/EGFR、p－JAK2/JAK2、p－STAT3/STAT3 蛋白表达水平均降低($P<0.05$);给予左归丸和维生素 E 干预后可不同程度改善上述异常指标。结论 母代干预左归丸可通过 JAK2－STAT3 改善 PS 对子代大鼠视网膜发育的影响。

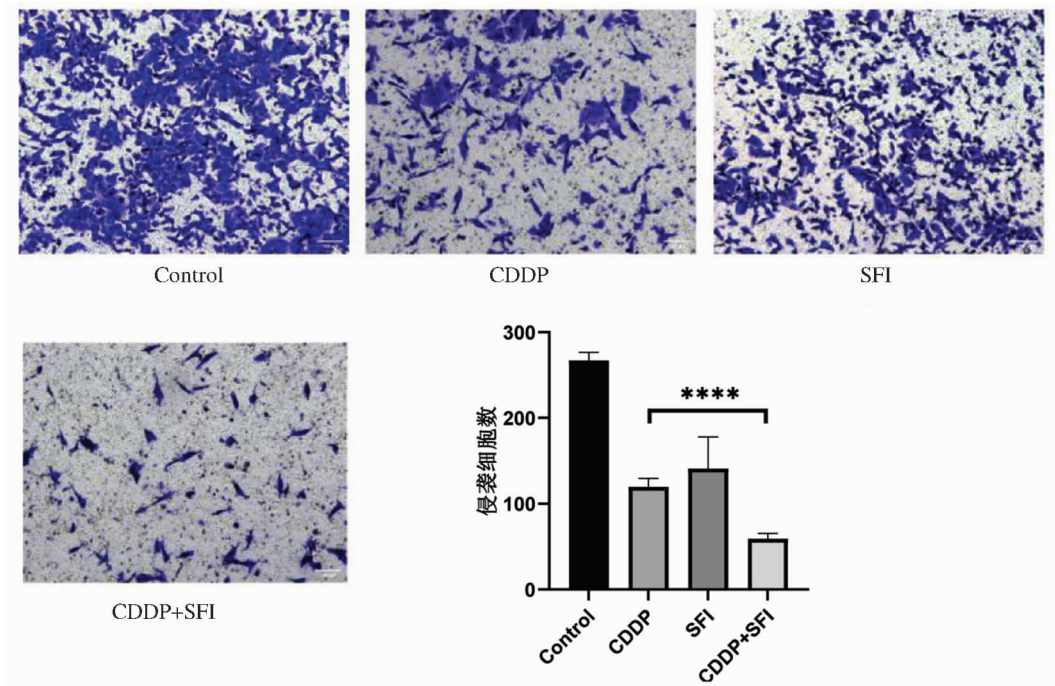
关键词:左归丸;JAK2－STAT3 通路;产前应激;子代;视网膜发育
中图分类号:R289.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)09-0173-08

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(82104704);湖北省自然科学基金项目(2023AFB990);湖北省中医药管理局基金项目(ZY2023F134)
作者简介:喻小明(1983－),男,湖北武汉人,副教授,硕士研究生导师,博士,研究方向:临床中药学及男科理论和临床。
通讯作者:萧闵(1981－),女(土家族),湖北恩施人,副研究员,硕士研究生导师,博士,研究方向:动物模型及中西医结合防治不孕不育。E-mail:ccxiao520@hbtcm.edu.cn。

[17] OBYRNE K J, BARR M P, GRAY S G. The role of epigenetics in resistance to Cisplatin chemotherapy in lung cancer[J]. Cancers (Basel), 2011, 3(1): 1426－1453.
[18] MORENO－BUENO G, PORTILLO F, CANO A. Transcriptional regulation of cell polarity in EMT and cancer[J]. Oncogene, 2008, 27(55): 6958－6969.
[19] LAM V K, SHARMA P, NGUYEN T, et al. Morphology, motility, and cytoskeletal architecture of breast cancer cells depend on keratin 19 and substrate[J]. Cytometry A, 2020, 97(11): 1145－1155.
[20] KAWAI T, YASUCHIKA K, ISHII T, et al. Keratin 19, a cancer stem cell marker in human hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(13): 3081－3091.
[21] VANDER BORGHT S, KOMUTA M, LIBBRECHT L, et al. Expression of multidrug resistance－associated protein 1 in hepatocellular carcinoma is associated with a more aggressive tumour phenotype and may reflect a progenitor cell origin[J]. Liver Int, 2008, 28(10): 1370－1380.
[22] BAKIR B, CHIARELLA A M, PITARRESI J R, et al. EMT, MET, plasticity, and tumor metastasis[J]. Trends Cell Biol, 2020, 30(10): 764－776.
[23] WANG H, ZHANG G, ZHANG H, et al. Acquisition of epithelial－mesenchymal transition phenotype and cancer stem cell－like properties in cisplatin－resistant lung cancer cells through AKT/β－catenin/Snail signaling pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2014, 723: 156－166.
[24] HASLEHURST A M, KOTI M, DHARSEE M, et al. EMT transcription factors snail and slug directly contribute to cisplatin resistance in ovarian cancer[J]. BMC Cancer, 2012, 12: 91.
[25] TAN J X, YOU Y, XU T B, et al. Par－4 downregulation confers cisplatin resistance in pancreatic cancer cells *via* PI3K/Akt pathway－dependent EMT[J]. Toxicol Lett, 2014, 224(1): 7－15.
[26] AMETLLER E, GARCÍA－RECIO S, COSTAMAGNA D, et al. Tumor promoting effects of CD95 signaling in chemoresistant cells[J]. Mol Cancer, 2010, 9: 161.
[27] KIM H, CHOI G H, NA D C, et al. Human hepatocellular carcinomas with "Stemness"－related marker expression: keratin 19 expression and a poor prognosis[J]. Hepatology, 2011, 54(5): 1707－1717.

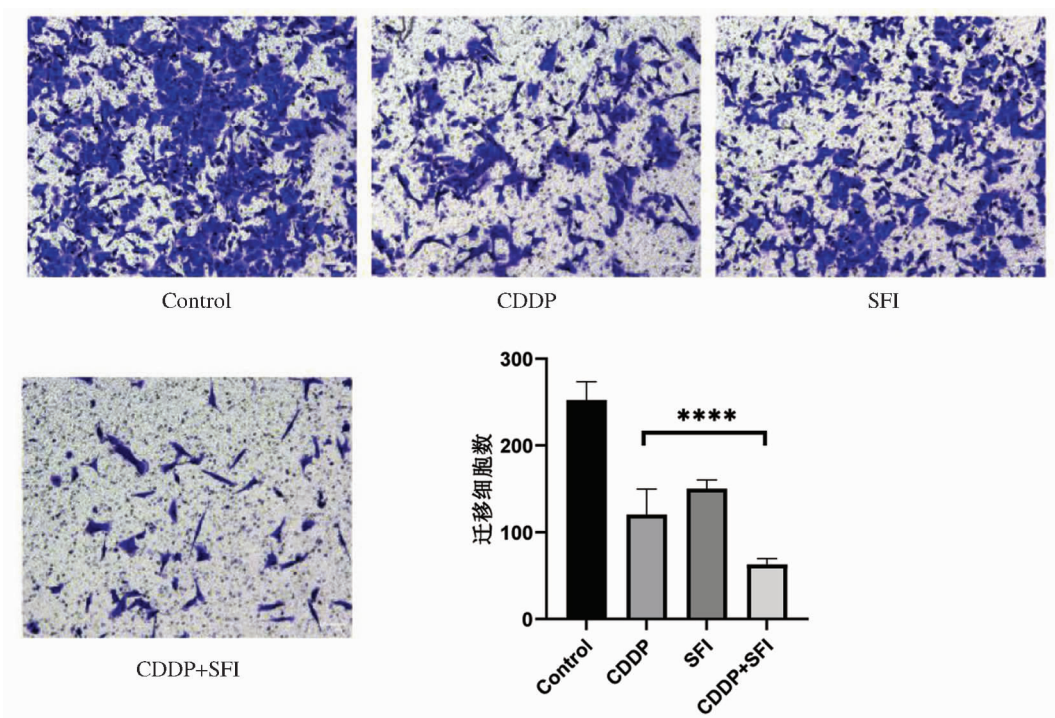
基于角蛋白 19 调控的上皮－间质转化与耐药探讨参芪扶正注射液对肺腺癌 A549/DDP 细胞增殖、侵袭、迁移的影响

（正文见 169－173 页）



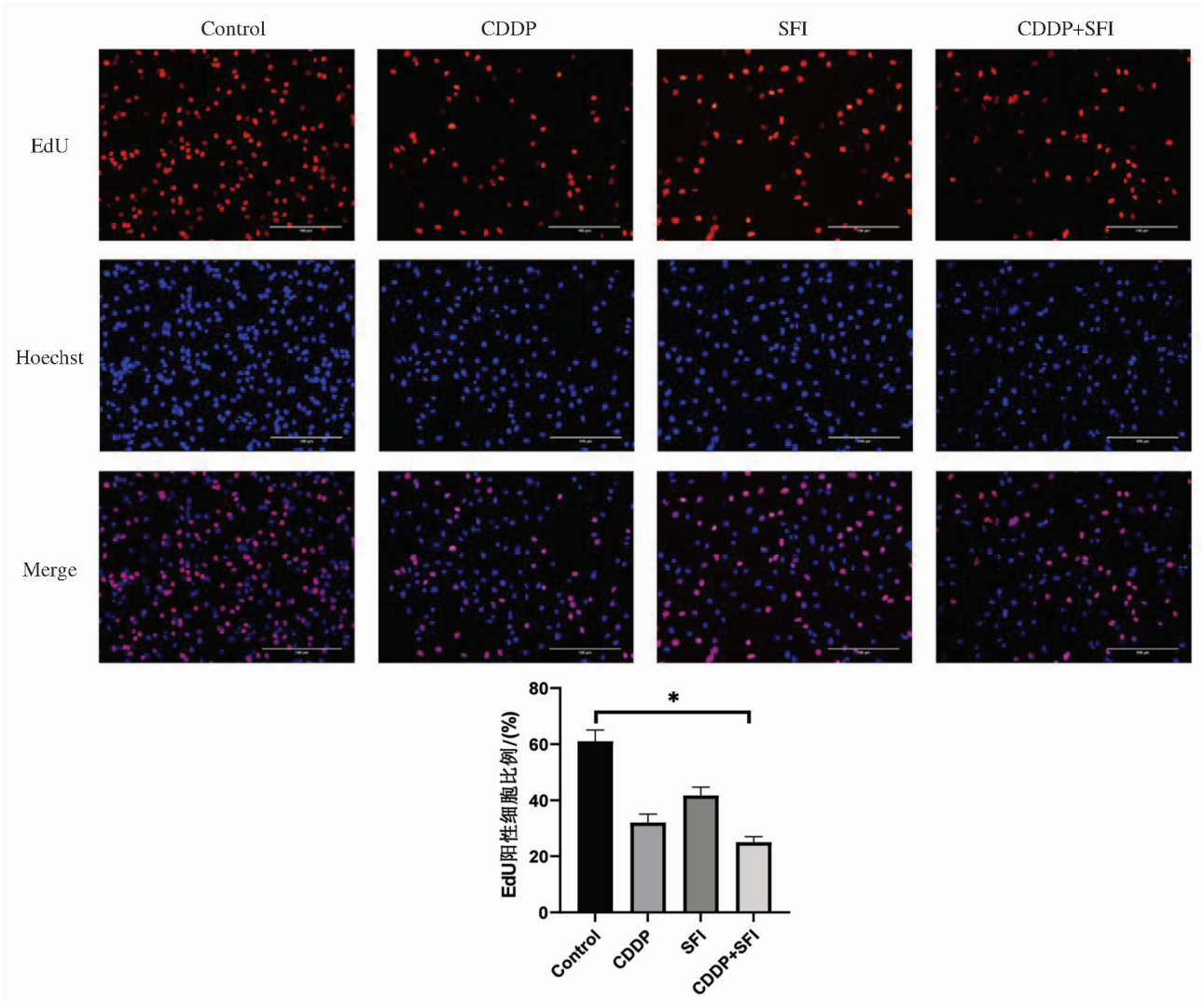
注：＊＊＊＊$P<0.0001$。

图 2　参芪扶正注射液增强顺铂对 A549/DDP 细胞侵袭的抑制作用（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）



注：＊＊＊＊$P<0.0001$。

图 3　参芪扶正注射液增强顺铂对 A549/DDP 细胞迁移的抑制作用（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）



注：* $P<0.05$。

图 4　参芪扶正注射液增强顺铂对 A549/DDP 细胞增殖的抑制作用($n=3$, $\bar{x}\pm s$)