

中图分类号: R932; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)01-0040-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.01.009



丹参多糖经 MAPK / ERK 信号轴抑制对肺癌细胞 A549 增殖、迁移和凋亡的影响*

郭志青, 支学军[△], 王 布, 苏 菁, 刘 芳

(河北北方学院附属第一医院, 河北 张家口 075000)

摘要:目的 探讨丹参多糖经丝裂原激活蛋白激酶(MAPK) / 细胞外信号调节激酶(ERK)信号轴抑制对肺癌细胞 A549 增殖、迁移和凋亡的影响。方法 体外培养 A549 细胞, 用不同质量浓度(0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 mg / mL)丹参多糖干预 48 h 后, 确定丹参多糖的半数抑制浓度(IC_{50}); 将 A549 细胞分为对照组、高剂量组、中剂量组和低剂量组(分别以 0, 8, 4, 2 mg / mL 丹参多糖干预), 以及抑制剂组(40 μ mol / L PD 98059)。采用划痕愈合试验检测 A549 细胞的迁移水平, 采用流式细胞术检测 A549 细胞的凋亡情况, 同时采用实时荧光定量聚合酶链反应法和免疫印迹法分别检测 A549 细胞中 MAPK、ERK、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、B 细胞淋巴瘤 2 基因(Bcl-2)、胱天蛋白酶 3(caspase-3)mRNA 和蛋白表达水平。结果 随着丹参多糖质量浓度的增加, A549 细胞增殖率显著降低($P < 0.05$); 丹参多糖对 A549 细胞的 IC_{50} 为 7.82 mg / mL, 高、中、低剂量组干预剂量分别为 8, 4, 2 mg / mL。与对照组比较, 抑制剂组, 高、中、低剂量组细胞的迁移距离及 MMP-9, MAPK, ERK, Bcl-2 mRNA 和蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$), 细胞凋亡率、caspase-3 mRNA 和蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$); 与抑制剂组比较, 高、中、低剂量组细胞的迁移距离及 MMP-9, MAPK, ERK, Bcl-2 mRNA 和蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$), 细胞凋亡率、caspase-3 mRNA 和蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$), 且随丹参多糖剂量的增加呈量效依赖关系($P < 0.05$)。结论 丹参多糖可能通过 MAPK / ERK 信号轴诱导 A549 细胞凋亡, 抑制 A549 细胞增殖和迁移。

关键词: 丹参多糖; 丝裂原激活蛋白激酶 / 细胞外信号调节激酶信号轴; 肺癌; 细胞增殖; 细胞迁移; 细胞凋亡

Effect of *Salvia Miltiorrhiza* Polysaccharide on the Proliferation, Migration and Apoptosis of Lung Cancer Cells A549 Through MAPK / ERK Signal Axis Inhibition

GUO Zhiqing, ZHI Xuejun, WANG Bu, SU Jing, LIU Fang

(The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China 075000)

Abstract: Objective To investigate the effect of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharide on proliferation, migration and apoptosis of lung cancer cells A549 through mitogen active protein kinase (MAPK) / extracellular signal - regulated kinase (ERK) signal axis inhibition. **Methods** A549 cells were cultured *in vitro* and treated with different mass concentrations (0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 mg / mL) of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharides for 48 h to determine the half inhibitory concentration (IC_{50}) of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharides. A549 cells were divided into the control group, high - dose group, medium - dose group, and low - dose group (0, 8, 4, 2 mg / mL of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharide), and the inhibitor group (40 μ mol / L PD 98059). The migration of A549 cells was detected by the scratch healing assay, and the apoptosis of A549 cells was detected by the flow cytometry. The mRNA and protein expression levels of matrix metalloproteinase - 9 (MMP - 9), MAPK, ERK, B cell lymphoma - 2 (Bcl - 2) and caspase - 3 were detected by the reverse transcription - polymerase chain reaction (RT - PCR) and the Western blot respectively. **Results** With the increase of the mass concentration of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharides, the proliferation rate of A549 cells significantly decreased ($P < 0.05$). The IC_{50} of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharides on A549 cells was 7.82 mg / mL, and 8, 4, and 2 mg / mL were selected as the intervention doses for high -, medium -, and low - dose groups respectively. Compared with those in the control group, the migration distance of cells, MMP - 9, MAPK, ERK, and Bcl - 2 mRNA and protein expression levels significantly decreased ($P < 0.05$), while the apoptosis rate and caspase - 3 mRNA and protein expression levels significantly increased in the inhibitor group and the high -, medium -, and low - dose groups ($P < 0.05$). Compared with those in the inhibitor group, the migration distance of cells, MMP - 9, MAPK, ERK, and Bcl - 2 mRNA and protein expression levels significantly increased ($P < 0.05$), while the apoptosis rate and caspase - 3 mRNA and protein expression levels significantly decreased in the high -, medium -, and low - dose groups ($P < 0.05$), which showed a dose - dependent relationship with the increase of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharide dose ($P < 0.05$). **Conclusion** *Salvia miltiorrhiza* polysaccharide can induce apoptosis of A549 cells and inhibit their proliferation and migration through the MAPK / ERK signaling axis.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* polysaccharide; MAPK / ERK signal axis; lung cancer; cell proliferation; cell migration; cell apoptosis

肺癌是中国最常见的癌症,也是首位癌症死亡原因,约占所有癌症死亡的 18%,而非小细胞肺癌

*基金项目:河北省中医药管理局 2023 年度中医药类科学研究课题计划项目[2023331]。

第一作者:郭志青,女,硕士研究生,住院医师,研究方向为呼吸病学,(电子信箱)15612300251@163.com。

[△]通信作者:支学军,女,硕士研究生,主任医师,研究方向为呼吸病学,(电子信箱)hxx123z@sina.com。

(NSCLC)约占85%,具有明显的流行病学、生物学和遗传学特征^[1]。由于缺乏有效的筛查策略,多数患者确诊时已是晚期,40%的NSCLC患者有远处转移^[2]。肺癌患者多以化学治疗(简称化疗)为主,如铂联合依托泊苷或伊立替康、长春碱、丝裂霉素等。虽然这些药物降低了肺癌患者的死亡率,但总体5年生存率仍很低(约18%)^[3]。因此,探索副作用小、有效的化疗方法仍是当务之急。研究显示,中药多糖为中药的主要活性成分,可抑制肿瘤细胞增殖、迁移和凋亡^[4]。丹参多糖是中药丹参的有效成分,具有较强的免疫调节功能^[5]。免疫增强剂作为肿瘤治疗的新研究方向,越来越受到研究者的关注。丝裂原激活蛋白激酶(MAPK)/细胞外信号调节激酶(ERK)信号轴的异常激活在NSCLC的肿瘤发生、发展中起关键作用,该通路中的各种成分在肺癌中几乎均受到影响^[6]。靶向MAPK/ERK信号轴的酪氨酸激酶抑制剂的临床应用是NSCLC治疗的重大突破^[7]。但酪氨酸激酶抑制剂不可避免地产生耐药性,可能由MAPK/ERK信号轴的下游通路的改变和替代通路的激活引起^[8]。为此,本研究中探讨了丹参多糖经MAPK/ERK信号轴对肺癌发展的抑制作用及其潜在作用机制,为临床应用丹参多糖治疗肺癌提供了依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与细胞

仪器:i160型CO₂培养箱(美国Thermo Revco公司);HBS-1096B型酶标仪(南京德铁实验设备有限公司);BD FACSCanto型流式细胞仪,CFX Touch型实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-PCR)仪,Bio-Rad Trans-blot Turbo蛋白转印系统,均购于美国BD公司;ChemiDoc-It凝胶成像仪(美国UVP公司);CX-21型普通光学显微镜(日本Olympus公司)。

试剂:丹参多糖(上海宝曼生物科技有限公司,批号为D3284,纯度不低于98%);ERK抑制剂PD98059(美国Cell Signaling公司,批号为S152835);RPMI-1640培养基和胎牛血清(美国Invitrogen公司,批号为PM16000044);胎牛血清(浙江天杭生物科技有限公司,批号为20181225);四噻唑蓝(MTT,美国Amresco公司,批号为0793);AnnexinV/PI细胞凋亡检测试剂盒(美国BD公司,批号为CA1020);Trizol试剂(生工生物工程<上海>股份有限公司,批号为SG569);RNA反转录试剂盒(批号为FSQ-101),荧光定量PCR试剂盒(批号为QPS-201),均购于日本TaKaRa公司;RIPA裂解缓冲液(武汉博士德生物工程有限公司,批号为AR1054);基质金属蛋白酶-9(MMP-9,批号为SC-1580),MAPK(批号为SC-1519),ERK(批号为SC-3152),磷酸化-ERK(p-ERK,批号为SC-3108),

B细胞淋巴瘤2基因(Bcl-2,批号为SC-5135),胱天蛋白酶3(caspase-3,批号为SC-3108),甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH,批号为SC-5497),均购于美国Santa Cruz公司。

细胞:肺癌细胞(A549细胞,中国科学院细胞生物科学研究所,批号为6319)。

1.2 方法

MTT法检测细胞增殖率:体外培养A549细胞,当细胞处于对数生长期时,将A549细胞铺板(96孔板,5×10⁴个/孔),用不同质量浓度(0,1,2,4,8,16,32,64 mg/mL)丹参多糖干预48 h,每孔加入MTT 20 μL,继续培养4 h,每孔加入二甲基亚砷200 μL,利用酶标仪于480 nm波长处测定吸光度(OD),确定丹参多糖的半数抑制浓度(IC₅₀)。分别设置高、中、低干预浓度,即1/4 IC₅₀、1/2 IC₅₀、IC₅₀的丹参多糖。

细胞分组:对照组(A组),A549细胞不进行处理;抑制剂组(B组),A549细胞给予浓度为40 μmol/L的PD98059^[9];高、中、低剂量组(C组、D组、E组)A549细胞依次给予质量浓度为IC₅₀、1/2 IC₅₀、1/4 IC₅₀的丹参多糖。A549细胞均干预48 h。每组设3个复孔。

划痕愈合试验检测细胞迁移率:按1.2项下方法干预A549细胞,铺板(6孔板,1×10⁶个/mL,每孔3 mL),待细胞贴壁后,用200 μL枪头的尖端垂直划线,用磷酸盐缓冲液冲洗划痕,48 h后用显微镜拍下划痕伤口,用图像分析仪测量划痕宽度。

流式细胞术检测细胞凋亡率:按1.2项下方法干预A549细胞,铺板(6孔板,1×10⁶个/mL,每孔3 mL),48 h后收获细胞,用磷酸盐缓冲液洗涤细胞2次,根据AnnexinV/PI细胞凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡情况。

RT-PCR法检测mRNA:按1.2项下方法干预A549细胞,铺板(6孔板,1×10⁶个/mL,每孔3 mL),48 h后收获细胞,用磷酸盐缓冲液洗涤细胞2次,加入TRIzol试剂,提取A549细胞总RNA,进行逆转录,用RT-PCR试剂盒进行扩增。MMP-9上游引物序列为5'-CCTGGAGACCTGAGAACCAATC-3',下游引物序列为5'-TTTCAGTGTGGTGATTACGACGTTA-3';MAPK上游引物序列为5'-TTGAACGGCAGTGGTGCAAACC-3',下游引物序列为5'-CCAATCGAACTGTATTGCTGAGC-3';ERK上游引物序列为5'-CGTACATGGCCTTCAATGGTTG-3',下游引物序列5'-GATCTACGTGACAATTCCGCC-3';Bcl-2上游引物序列为5'-GTGGAGGAGCTCTTCAGGGA-3',下游引物序列为5'-AGGCACCCAGGGTGATGCAA-3';Caspase-3上游引物序列为5'-TGACGGCAGTGGCTGAACCAA-3',下游引物序列为5'-CGCTGAATCGAAAGCCCTG-

TATT - 3'; GAPDH 引物序列: 上游引物为 5' - TTCAC-CACCATGGAGAAGGC - 3', 下游引物为 5' - GGCATG-GACTGTGGTCATGAG - 3'。总体系共 20 μ L, 其中, 2 $\times$ Taq PCR MasterMix 10 μ L, cDNA 1 μ L、每个引物 0.5 μ L, SYBR - Green 0.3 μ L, ddH₂O 7.7 μ L, 采集荧光 (61 $^{\circ}$ C), 以 GAPDH 作为内参, 采用 2^{- $\Delta\Delta$ C_t} 法计算 MMP - 9, MAPK, ERK, Bcl - 2, caspase - 3 mRNA 的相对表达量。

免疫印迹法检测蛋白: 按 1.2 项下方法干预 A549 细胞, 铺板 (6 孔板, 1 $\times$ 10⁶ 个 / mL, 每孔 3 mL), 48 h 后收获细胞, 用磷酸盐缓冲液洗涤细胞 2 次, 用 RIPA 裂解缓冲液裂解 30 min, 离心, 取上清液进行电泳 (每孔 20 μ g), 转膜。抗体孵育, MMP - 9 (1 : 200)、MAPK (1 : 500)、ERK (1 : 400)、p - ERK (1 : 300)、Bcl - 2 (1 : 400)、caspase - 3 (1 : 200), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 洗膜后用二抗 (1 : 10 000) 在室温下孵育 30 min, 显色, 以 GAPDH 作为内参, 采集图像, 并进行分析。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 26.0 统计学软件分析。计量资料 $\bar{X} \pm s$ 表示, 行单因素方差分析, 组间两两比较用 SNK - q 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同质量浓度丹参多糖对 A549 细胞增殖的影响
随着丹参多糖质量浓度的增加, A549 细胞增殖率显著降低 ($F = 641.705, P = 0.000$)。丹参多糖对 A549 细胞的 IC₅₀ 为 7.82 mg / mL, 故 C 组、D 组、E 组的干预剂量分别为 8, 4, 2 mg / mL。结果见表 1。

2.2 丹参多糖对 A549 细胞迁移与凋亡的影响
与 A 组比较, B 组、C 组、D 组、E 组的细胞迁移距离均显著降低 ($P < 0.05$), 细胞凋亡率均显著增加 ($P < 0.05$); 与 B 组比较, C 组、D 组、E 组的细胞迁移距离均显著增加 ($P < 0.05$), 细胞凋亡率均显著降低 ($P < 0.05$), 且随丹参多糖剂量的增加均呈量效依赖关系 ($P < 0.05$)。详见表 2、图 1 至图 2。

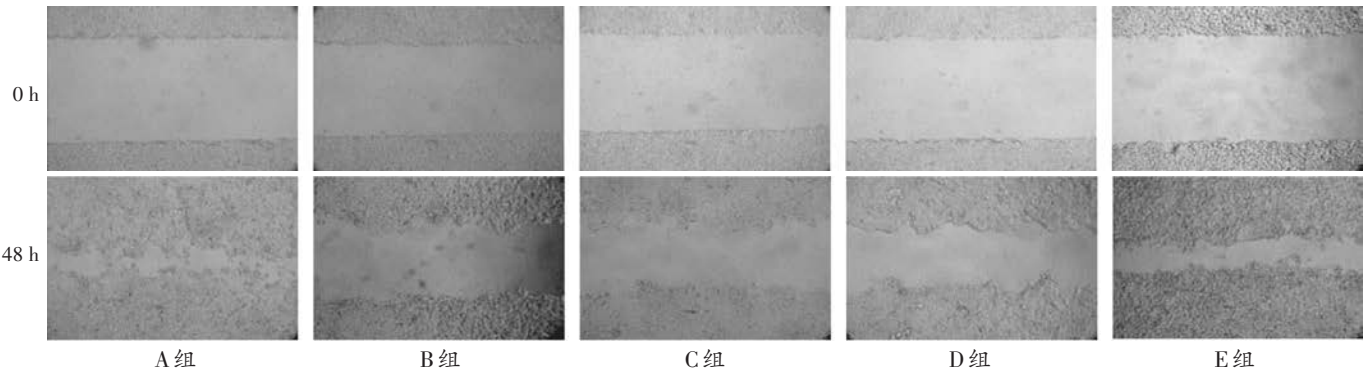


图 1 划痕愈合实验检测 A549 细胞迁移情况 ($\times 100$)

Fig. 1 The migration of A549 cells measured by the scratch healing assay ($\times 100$)

表 1 不同质量浓度丹参多糖干预 48 h 后 A549 细胞增殖率比较 ($\bar{X} \pm s, \%$)

Tab. 1 Effect of different mass concentrations of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharide on the proliferation rate of A549 cells ($\bar{X} \pm s, \%$)

质量浓度	细胞增殖率	质量浓度	细胞增殖率
0 mg / mL	100.00 $\pm$ 10.42	8 mg / mL	48.16 $\pm$ 3.28 ^a
1 mg / mL	95.78 $\pm$ 8.52	16 mg / mL	23.59 $\pm$ 18.67 ^a
2 mg / mL	80.36 $\pm$ 5.31 ^a	32 mg / mL	13.67 $\pm$ 4.13 ^a
4 mg / mL	63.49 $\pm$ 6.72 ^a	64 mg / mL	5.02 $\pm$ 1.87 ^a

注: 与 0 mg / mL 比较, ^aP < 0.05.
Note: Compared with those at 0 mg / mL, ^aP < 0.05.

表 2 丹参多糖对 A549 细胞迁移与凋亡的影响 ($\bar{X} \pm s, n = 15$)
Tab. 2 Effect of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharide on migration and apoptosis of A549 cells ($\bar{X} \pm s, n = 15$)

组别	剂量	迁移距离 (μ m)	凋亡率 (%)	
			晚期	早期
A 组	-	38.16 $\pm$ 5.24	1.63 $\pm$ 0.20	3.64 $\pm$ 0.51
B 组	40 μ mol / L PD98059	17.39 $\pm$ 2.63 ^a	13.05 $\pm$ 0.48 ^a	13.03 $\pm$ 2.01 ^a
C 组	8 mg / mL 丹参多糖	22.60 $\pm$ 2.25 ^{ab}	8.77 $\pm$ 1.04 ^{ab}	4.29 $\pm$ 0.57 ^{ab}
D 组	4 mg / mL 丹参多糖	28.63 $\pm$ 4.69 ^{abc}	5.53 $\pm$ 0.24 ^{abc}	1.27 $\pm$ 0.29 ^{abc}
E 组	2 mg / mL 丹参多糖	33.59 $\pm$ 5.70 ^{abcd}	3.33 $\pm$ 0.72 ^{abcd}	0.76 $\pm$ 0.74 ^{abcd}
F 值		167.142	283.055	316.272
P 值		0.000	0.000	0.000

注: 与 A 组比较, ^aP < 0.05; 与 B 组比较, ^bP < 0.05; 与 C 组比较, ^cP < 0.05; 与 D 组比较, ^dP < 0.05。- 为未作处理。表 3 至表 4 同。
Note: Compared with those in group A, ^aP < 0.05; Compared with those in group B, ^bP < 0.05; Compared with those in group C, ^cP < 0.05; Compared with those in group D, ^dP < 0.05. - indicated that not treated (for Tab. 2 - 4).

2.3 丹参多糖对 A549 细胞中 MMP - 9, MAPK, ERK, Bcl - 2, caspase - 3 mRNA 和蛋白的影响
与 A 组比较, B 组、C 组、D 组、E 组细胞中 MMP - 9, MAPK, ERK, Bcl - 2 mRNA 和蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$), caspase - 3 mRNA 和蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$); 与 B 组比较, C 组、D 组、E 组细胞中 MMP - 9,

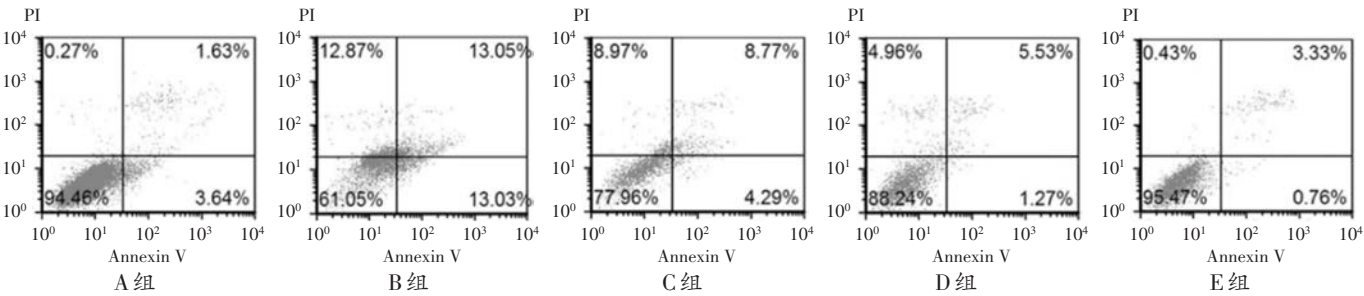


图 2 流式细胞术检测 A549 细胞凋亡情况

Fig. 2 The apoptosis of A549 cells measured by the flow cytometry

表 3 丹参多糖对 A549 细胞中 MMP-9, MAPK, ERK, Bcl-2, caspase-3 mRNA 和蛋白的影响 ($\bar{X} \pm s, n = 15$)

组别	剂量	MMP-9		MAPK		ERK		Bcl-2		caspase-3	
		mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
A 组	-	1.00 ± 0.10	0.34 ± 0.05	1.00 ± 0.05	0.45 ± 0.08	1.00 ± 0.11	0.89 ± 0.12	1.00 ± 0.07	0.74 ± 0.08	1.00 ± 0.09	0.30 ± 0.06
B 组	40 μmol/L PD98059	0.28 ± 0.03 ^a	0.10 ± 0.02 ^a	0.21 ± 0.04 ^a	0.08 ± 0.02 ^a	0.37 ± 0.06 ^a	0.24 ± 0.05 ^a	0.13 ± 0.02 ^a	0.07 ± 0.02 ^a	1.77 ± 0.09 ^a	0.64 ± 0.06 ^a
C 组	8 mg/mL 丹参多糖	0.37 ± 0.09 ^{ab}	0.15 ± 0.04 ^{ab}	0.39 ± 0.01 ^{ab}	0.19 ± 0.04 ^{ab}	0.46 ± 0.05 ^{ab}	0.31 ± 0.02 ^{ab}	0.25 ± 0.04 ^{ab}	0.20 ± 0.05 ^{ab}	1.61 ± 0.08 ^{ab}	0.53 ± 0.08 ^{ab}
D 组	4 mg/mL 丹参多糖	0.52 ± 0.05 ^{abc}	0.22 ± 0.05 ^{abc}	0.48 ± 0.03 ^{abc}	0.30 ± 0.02 ^{abc}	0.62 ± 0.08 ^{abc}	0.42 ± 0.09 ^{abc}	0.39 ± 0.20 ^{abc}	0.43 ± 0.12 ^{abc}	1.50 ± 0.05 ^{abc}	0.42 ± 0.01 ^{abc}
E 组	2 mg/mL 丹参多糖	0.66 ± 0.09 ^{abcd}	0.28 ± 0.07 ^{abcd}	0.58 ± 0.09 ^{abcd}	0.36 ± 0.04 ^{abcd}	0.75 ± 0.06 ^{abcd}	0.67 ± 0.05 ^{abcd}	0.53 ± 0.07 ^{abcd}	0.61 ± 0.06 ^{abcd}	1.42 ± 0.04 ^{abcd}	0.35 ± 0.03 ^{abcd}
F 值		32.173	18.053	35.886	29.714	19.537	34.125	42.081	38.067	12.335	22.332
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

MAPK, ERK, Bcl-2 mRNA 和蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$), caspase-3 mRNA 和蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$), 且随丹参多糖剂量的增加呈量效依赖关系 ($P < 0.05$)。详见表 3 和图 3。

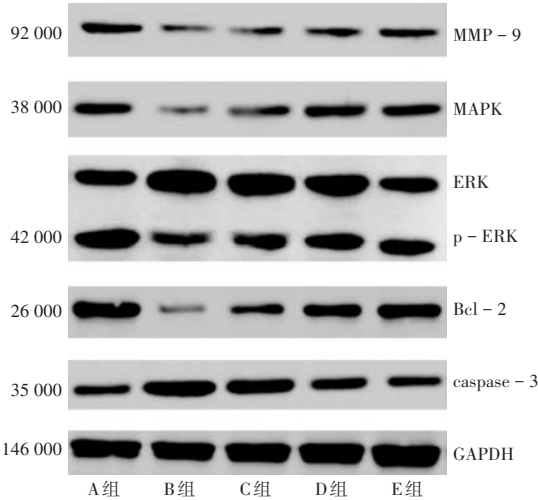


图 3 免疫印迹法检测 A549 细胞中凋亡相关蛋白的表达

Fig. 3 Expression of apoptosis-related proteins in A549 cells detected by the Western blot

3 讨论

目前, NSCLC 的临床化疗方案毒性过大, 尚无最佳治疗方案^[10]。中药多糖是一种具有生物活性的代谢物, 通过抑制癌细胞增殖而发挥抗癌作用^[11]。体外实验证明, 多糖对口腔鳞状细胞癌的增殖有抑制作用^[12]。本研

究中发现, 丹参多糖可抑制 A549 细胞的增殖, 且呈浓度依赖性, 这与文献^[13]的研究结果一致, 提示丹参多糖具有抗增殖作用。癌细胞的转移活性是癌症死亡的关键机制。上皮间质转化(EMT)在多种癌症中均有促进肿瘤侵袭转移的作用。EMT 相关蛋白的表达升高, MMP-9 已被证明具有促进肿瘤转移的能力^[14]。多糖通过抑制 MMP-9 活性在癌细胞中表现出抗转移作用^[15]。本研究中发现, 丹参多糖作用于 A549 细胞后, MMP-9 表达降低; 迁移实验结果表明, 随着丹参多糖质量浓度的增加, A549 细胞的迁移距离显著降低。故推测丹参多糖可能通过调控 MMP-9 的表达而对人肺癌细胞产生抗迁移作用。

多糖参与多种癌症的细胞凋亡。多项民族药理学研究表明, 中药多糖可诱导人肺癌细胞凋亡^[15-16]。本研究中的流式细胞术分析显示, 丹参多糖处理的 A549 细胞的凋亡率显著增加, 且呈量效依赖性, 与文献^[17]的研究结果一致, 提示丹参多糖可能通过诱导细胞凋亡而抑制肺癌的发生与发展。

肺癌的发病机制涉及癌基因、抑癌基因、信号通路等多种因素的改变。MAPK/ERK 信号轴在所有真核生物中高度保守, 经常在人类癌症中被激活, 是参与细胞增殖、分化和生存的主要信号通路^[18]。MAPK/ERK 信号轴在细胞反应中可能起关键作用, 直接或间接地对细胞或机体的稳态至关重要。ERK 是典型的 MAPK, 在细胞增殖中起重要作用, ERK 的磷酸化可作为 MEPK 激

活的生物标志物^[19]。BH3模拟物在NSCLC中诱导MAPK/ERK激活,从而导致ERK磷酸化和Bcl-2上调,促进ERK的磷酸化和细胞存活^[20]。有研究表明,MAPK/ERK抑制剂可能有效抑制NSCLC转移^[21]。MAPK/ERK信号轴的失调导致细胞周期调节、分化、迁移和癌症干细胞中多个基因的表达发生多重变化,上述基因对NSCLC的癌变和多药耐药至关重要^[22]。本研究结果显示,ERK抑制剂PD98059能抑制ERK磷酸化,丹参多糖也有类似作用。MAPK/ERK信号通路的激活可通过诱导抗凋亡蛋白Bcl-2以促进癌细胞的生存^[23]。Bcl-2高表达可通过线粒体凋亡途径发生一系列反应,最终抑制caspase-3的激活,从而抑制细胞凋亡^[24]。本研究结果显示,丹参多糖作用于A549细胞后,Bcl-2表达降低,而caspase-3表达增加,与流式细胞术分析结果一致,表明丹参多糖具有诱导A549细胞凋亡的作用。

综上所述,丹参多糖通过抑制MAPK/ERK信号轴而诱导A549细胞凋亡,可抑制A549细胞的增殖和迁移,为丹参多糖治疗肺癌提供了理论依据。但本研究未作体内实验进行验证,且未选取常见的抗肿瘤药物作为阳性对照,后续研究将作进一步论证。

参考文献

- [1] 江国军,邱艳,任菁菁. 1990-2019年中国气管、支气管和肺癌疾病负担变化趋势及地域分析[J]. 癌症, 2022, 41(7):336-344.
- [2] 甘彬,刘思阳,吴一龙. 2021年非小细胞肺癌重要临床研究纵观与解读[J]. 中国肺癌杂志, 2022, 25(5):295-302.
- [3] 桂越蓉,樊炳杰,李经蕾,等. 艾迪注射液联合化疗治疗非小细胞肺癌的系统评价/Meta分析再评价[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(14):3923-3932.
- [4] 任峰,王阳林,李健. 中药多糖通过下调Hepcidin表达抑制肝癌细胞增殖作用[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(23):5284-5287.
- [5] 靳国忠,窦萌萌,张迪,等. 丹参多糖缓解小鼠乳腺炎症和过氧化反应的作用与机制[J]. 中国兽医学报, 2022, 42(5):1023-1029.
- [6] ZHANG J, SUN B, RUAN X, et al. Oncoprotein HBXIP promotes tumorigenesis through MAPK/ERK pathway activation in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Biol Med, 2021, 18(1):105-119.
- [7] 郝佩琪,安翰,杨洋,等. MEK激酶及其抑制剂的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2015, 37(10):1425-1431.
- [8] 刘芳,赵川,陈彻,等. 细胞外信号调节激酶与肿瘤的关系及其抑制剂的研究进展[J]. 肿瘤药学, 2019, 9(2):184-188.
- [9] 昌兰,路亮,姚砥,等. PD98059影响结肠癌细胞对雷替曲塞的敏感性及其机制[J]. 中华消化杂志, 2017, 37(11):770-772.
- [10] 周思成,沈诚,车国卫. 青年型非小细胞肺癌治疗研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2022, 25(12):888-894.
- [11] 周艾玲,王段珩,岳晓蕾,等. 中药多糖抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(16):236-244.
- [12] 景永帅,马云凤,王非凡,等. 丹参多糖的含量测定、结构表征及药理活性研究进展[J]. 中国药房, 2020, 31(16):2037-2042.
- [13] 崔海洋,张兴超,张雪茹,等. 红参多糖分级醇沉组分对肺腺癌A549细胞增殖抑制作用[J]. 实验室科学, 2021, 24(2):55-64.
- [14] LU T, ZHENG C, FAN Z. Cardamonin 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.
- [15] LI N, YANG L, PAN C, et al. Naturally-occurring bacterial cellulose-hyperbranched cationic polysaccharide derivative/MMP-9 siRNA composite dressing for wound healing enhancement in diabetic rats[J]. Acta Biomater, 2020, 102:298-314.
- [16] 杨琪,段俊颖,王雪林,等. 黄芪多糖对肺癌A549细胞自噬的作用及机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(12):1329-1333.
- [17] 王霄. 丹参多糖对免疫性肝损伤小鼠肝脏TLR4/MyD88信号通路和凋亡因子的影响[D]. 石家庄:河北农业大学, 2019.
- [18] ASL ER, AMINI M, NAJAFI S, et al. Interplay between MAPK/ERK signaling pathway and MicroRNAs: A crucial mechanism regulating cancer cell metabolism and tumor progression[J]. Life Sci, 2021, 278:119499.
- [19] PORTELINHA A, THOMPSON S, SMITH RA, et al. ASN007 is a selective ERK1/2 inhibitor with preferential activity against RAS- and RAF-mutant tumors[J]. Cell Rep Med, 2021, 2(7):100350.
- [20] HE J, HUANG Z, HAN L, et al. Mechanisms and management of 3rd-generation EGFR-TKI resistance in advanced non-small cell lung cancer (Review) [J]. Int J Oncol, 2021, 59(5):90.
- [21] 余治国,巩博,陆卫华,等. 沉默HIF-1 α 调控MAPK/ERK信号通路抑制NSCLC转移的分析[J]. 中华肺部疾病杂志:电子版, 2021, 14(5):573-578.
- [22] XXA B, XZA B, KL B, et al. 2,6-DMBQ suppresses cell proliferation and migration via inhibiting mTOR/AKT and p38 MAPK signaling pathways in NSCLC cells [J]. J Pharmacol Sci, 2021, 145(3):279-288.
- [23] 杨延庆,王焕焕,谢坤霞,等. MAPK/ERK通过诱导纤维蛋白A磷酸化抑制垂体瘤细胞增殖,凋亡,迁移及相关信号转导[J]. 实用药物与临床, 2021, 24(1):6-10.
- [24] ZHAO S, NAN L, WANG Y, et al. Effects of Smad4 on the expression of caspase3 and Bcl2 in human gingival fibroblasts cultured on 3D PLGA scaffolds induced by compressive force[J]. Int J Mol Med, 2021, 47(3):04858.

(收稿日期:2023-04-12;修回日期:2023-07-26)