

绞股蓝皂苷L调控NUF2影响镁稳态诱导卵巢癌细胞凋亡的分子机制

洪洋¹, 张迪², 董元广¹, 王嘉鑫¹, 潘露¹, 周立江^{1,2}, 袁明殿^{1,2}, 王群^{1*}, 宋囡^{1*}
(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学附属医院, 沈阳 110032)

[摘要] 目的:探讨NDC80动粒复合体组成部分(NUF2)与镁稳态在卵巢癌细胞凋亡中的作用及绞股蓝皂苷L(Gyp-L)对NUF2与镁稳态的调控机制。方法:将卵巢癌OVCAR3细胞分为空白组、Gyp-L低浓度(50 μmol·L⁻¹)组、Gyp-L高浓度(100 μmol·L⁻¹)组和顺铂(15 μmol·L⁻¹)组。通过细胞划痕、克隆实验及原位末端转移酶标记法(TUNEL)染色反映OVCAR3细胞迁移、增殖、凋亡能力。通过GEO数据库,筛选出卵巢癌差异表达基因;STRING数据库,了解差异表达基因蛋白互作关系;TIMER数据库,进行预后生存分析;GEPIA数据库,验证基因差异表达水平。通过实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测OVCAR3细胞NUF2、镁稳态相关指标:镁转运蛋白1(MAGT1)、非印记Prader-Willi/Angelman综合征基因1(NIPA1)、NIPA样结构域包含蛋白1(NIPAL1)及凋亡相关指标B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)mRNA表达水平;Wes全自动蛋白表达分析系统检测OVCAR3细胞NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2及Bax蛋白表达水平。构建过表达NUF2模型,并进行Gyp-L干预。通过细胞克隆、TUNEL染色、Real-time PCR、Wes全自动蛋白表达分析系统验证Gyp-L通过调控NUF2影响镁稳态诱导卵巢癌细胞凋亡的分子机制。最后,通过免疫荧光检测Mg²⁺含量及蛋白质合成效率。结果:Gyp-L能够明显抑制OVCAR3细胞迁移与增殖能力,明显促进其凋亡($P<0.05$)。过表达NUF2明显提高MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2表达水平,明显降低Bax表达水平($P<0.05$),使细胞内Mg²⁺含量及蛋白合成效率明显升高,同时抑制细胞凋亡($P<0.05$)。Gyp-L能够逆转NUF2过表达所导致的镁稳态失衡及凋亡抑制,明显下调NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2表达水平($P<0.05$),同时明显上调Bax表达水平($P<0.05$)。结论:Gyp-L能够抑制卵巢癌的发生,其机制可能与抑制NUF2表达以维持镁稳态,诱导卵巢癌细胞凋亡有关。

[关键词] 绞股蓝皂苷L; 卵巢癌; NDC80动粒复合体组成部分(NUF2); 镁稳态; 细胞凋亡

[中图分类号] R711;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)13-0155-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260611

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260424.1522.005>

[网络出版日期] 2026-04-26 09:10:15 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



Molecular Mechanism of Gypenoside L Inducing Ovarian Cancer Cell Apoptosis by Regulating NUF2 and Influencing Magnesium Homeostasis

HONG Yang¹, ZHANG Di², DONG Yuanguang¹, WANG Jiixin¹, PAN Lu¹, ZHOU Lijiang^{1,2},
YUAN Mingdian^{1,2}, WANG Qun^{1*}, SONG Nan^{1*}

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shenyang 110847, China;
2. Affiliated Hospital of Liaoning University of TCM, Shenyang 110032, China)

[Abstract] **Objective:** This paper aims to investigate the role of NDC80 kinetochore complex component (NUF2) and magnesium homeostasis in ovarian cancer cell apoptosis, as well as the regulatory mechanism of gypenoside L (Gyp-L) on NUF2 and magnesium homeostasis. **Methods:** Ovarian cancer OVCAR3 cells were divided into a blank control group, a low-

[收稿日期] 2026-02-09

[基金项目] 辽宁省教育厅高校基本科研项目储备项目(2024-JYTCB-008);2024年辽宁省科技计划联合计划(自然科学基金)项目(2024-MSLH-299);2025年辽宁省科技计划联合计划(自然科学基金)项目(2025-MSLH-475)

[第一作者] 洪洋,在读硕士,从事中医药防治肿瘤疾病的研究,E-mail:2034066417@qq.com

[通信作者] *王群,讲师,硕士,从事中西医结合防治代谢性疾病及肿瘤的研究,E-mail:920949344@qq.com;

*宋囡,正高级实验师,硕士生导师,博士,从事中西医结合异病同治肿瘤与心血管疾病的研究,E-mail:cpcool@126.com

concentration Gyp-L group ($50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), a high-concentration Gyp-L group ($100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), and a cisplatin ($15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) group. The migration, proliferation, and apoptosis capabilities of OVCAR3 cells were evaluated through cell scratch assays, clonal experiments, and terminal-deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling assay (TUNEL) staining. Differentially expressed genes of ovarian cancer were screened by using the Gene Expression Omnibus (GEO) database. The interaction relationships of differentially expressed genes and proteins were analyzed via the Search Tool for Recurring Instances of Neighbouring Genes (STRING) database. The prognostic survival analysis was performed by using the Tumor Immune Estimation Resource (TIMER) database, and the differential expression levels of genes were validated with the Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) database. The mRNA expression levels of NUF2, magnesium homeostasis-related indicators, such as magnesium transporter 1 (MAGT1), non-imprinted in Prader-Willi/Angelman syndrome 1 (NIPA1), NIPA-like domain containing 1 (NIPAL1), as well as apoptosis-related indicators B cell lymphoma-2 (Bcl-2) and Bcl-2-associated X protein (Bax) in OVCAR3 cells, were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR). The protein expression levels of NUF2, MAGT1, NIPA1, NIPAL1, Bcl-2, and Bax in OVCAR3 cells were quantitatively analyzed by ProteinSimple WES. A model of overexpression of NUF2 was constructed, and Gyp-L intervention was performed. The molecular mechanism by which Gyp-L induces ovarian cancer cell apoptosis by regulating NUF2 and influencing magnesium homeostasis was quantitatively analyzed and detected through cell cloning, TUNEL staining, Real-time PCR, and ProteinSimple WES. Finally, the Mg^{2+} content and protein synthesis efficiency were detected by immunofluorescence. **Results:** Gyp-L significantly inhibited the migration and proliferation capabilities of OVCAR3 cells and promoted their apoptosis ($P<0.05$). Overexpression of NUF2 markedly increased the expression levels of MAGT1, NIPA1, NIPAL1, and Bcl-2, while reducing the expression level of Bax ($P<0.05$). It also significantly elevated intracellular Mg^{2+} content and protein synthesis efficiency and simultaneously inhibited apoptosis ($P<0.05$). Gyp-L could reverse the magnesium homeostasis imbalance and apoptosis inhibition caused by the overexpression of NUF2, downregulating the expression levels of NUF2, MAGT1, NIPA1, NIPAL1, and Bcl-2 ($P<0.05$), while upregulating the expression level of Bax ($P<0.05$). **Conclusion:** Gyp-L can inhibit the occurrence of ovarian cancer, and its mechanism may involve inhibiting the expression of NUF2 to maintain magnesium homeostasis and inducing apoptosis of ovarian cancer cells.

[Keywords] gypenoside L; ovarian cancer; NDC80 kinetochore complex component (NUF2); magnesium homeostasis; apoptosis

卵巢癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤之一,其发病率位居妇科恶性肿瘤第3位,死亡率高居首位,严重威胁女性生命健康^[1]。据2022年全球癌症统计数据,卵巢癌新增病例超过32万例,死亡人数约21万^[2]。由于卵巢癌早期症状隐匿,超过75%的卵巢癌患者确诊时已为晚期^[3]。当前,卵巢癌标准治疗方案是以肿瘤细胞减灭术为主,辅以铂类为基础的联合化疗^[4]。然而,尽管初始治疗反应率较高,仍有超过70%的患者面临复发和耐药问题^[5]。中医药作为肿瘤辅助疗法,能有效减轻放化疗不良反应,逆转耐药性,并提高患者生活质量^[6-7]。绞股蓝作为一种传统药用植物,其所含的绞股蓝皂苷类成分具有抗炎、抗肿瘤等多种药理活性^[8-9],而绞股蓝皂苷-L(Gyp-L)作为其重要活性单体,在课题组前期研究中已被证实能够通过糖酵解途径、tsRNA介导铁死亡路径抑制卵巢癌发生发展^[10-12],但其具体分子机制仍有待探讨。

肿瘤细胞有丝分裂过程中染色体准确分离依赖于动粒-微管间的相互作用,NDC80复合物作为动粒-微管连接的重要组分,其功能障碍导致的染色体分离异常是驱动肿瘤发生的关键因素^[13-14]。本研究通过生物信息学分析筛选到卵巢癌差异表达基因NDC80动粒复合体组成部分(NUF2),其作为

NDC80复合物重要组成部分之一,既在动粒与纺锤体微管稳定连接中发挥重要作用,又作为关键信号参与调控纺锤体检查点,从而确保染色体分离的精确性^[15]。研究表明,NUF2过表达与肿瘤进展、转移及患者不良预后密切相关^[16],提示NUF2可能是一个重要的促癌因子。镁离子作为细胞内最丰富的二价阳离子,广泛参与蛋白质合成、细胞能量代谢、核酸合成及线粒体功能等生物学过程^[17-18]。镁离子与细胞增殖、凋亡等肿瘤恶性表型密切相关^[19]。近期研究发现,NUF2能够通过影响细胞内镁稳态调控蛋白质合成效率,从而参与癌症进展^[20],但这一机制在卵巢癌中尚未被探索。因此,本研究从NUF2-镁稳态入手,初步探讨Gyp-L促进细胞凋亡抗卵巢癌的分子机制,为中医药治疗卵巢癌提供新的实验基础与科学依据。

1 材料

1.1 细胞 卵巢癌 OVCAR3 细胞购于中国科学院上海生命科学院细胞库(货号 SCSP-510),传代至第5代后进行后续实验。

1.2 试剂 Gyp-L 单体(美国 Med Chem Express 生物科技公司,货号 HY-N8211);顺铂(美国 Sigma 生物科技公司,货号 P4394);细胞增殖与活性检测法(CCK-8)试剂盒、结晶紫(LPO)(北京索莱宝科技有

限公司,货号分别为CA1210、G1062);TRIzol(康为世纪公司,货号CW0580S);HiFiScript All-in-one RT Master Mix for qPCR、SuperStar Blue Universal SYBR Master Mix(江苏康为世纪生物科技股份有限公司,货号分别为CW3371、CW3390);NUF2抗体(成都正能生物技术有限责任公司,货号861546);镁转运蛋白1(MAGT1)、非印记Prader-Willi/Angelman综合征基因1(NIPA1)抗体(上海艾比玛特医药科技有限公司,货号分别为PU499299、PR13730);NIPA样结构域包含蛋白1(NIPAL1)、 β -肌动蛋白(β -actin)、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为Ag39256、66009-1-Ig、12789-1-AP、50599-2-Ig);BeyoClick HPG-488蛋白合成检测试剂盒、一步法原位末端转移酶标记法(TUNEL)细胞凋亡检测试剂盒(绿色荧光)、抗荧光淬灭封片液、免疫染色强力通透液(上海碧云天生物技术有限公司,货号分别为P1202S、C1088、P0126、PO097);Pluronic®F-127, Cell Culture Tested细胞培养级、Mag-Fluo-4^{AM}, Cell Permeant镁离子荧光探针(上海懋康生物技术有限公司,货号分别为MS4301-1G、MX4544-100UG)。

1.3 仪器 Heraeus Megafuge 8R型高速离心机、QuantStudio™ 3实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)Instrument(96-Well 0.2ml Block)型PCR扩增仪(赛默飞世尔科技公司);INFINITE 200 PRO型酶标仪(瑞士Tecan公司);Wes全自动蛋白表达分析系统(美国Protein Simple公司);T100™ Thermal Cycler型反转录仪器、ZOE型荧光细胞成像仪(美国伯乐生命医学产品有限公司)。

2 方法

2.1 Gyp-L含药培养基的配制 称取Gyp-L 1 mg溶于二甲基亚砜(DMSO) 20 μ L,分别加入25、12.5 mL DMEM完全培养基配制为50、100 μ mol \cdot L⁻¹的含药培养基,-20℃保存。

2.2 细胞培养及传代 OVCAR3细胞用含10%胎牛血清和1%青-链霉素的DMEM高糖培养基于37℃,5% CO₂细胞培养箱内培养。细胞汇合度80%左右时,用胰酶消化传代进行后续试验。

2.3 CCK-8检测细胞存活率 将对数生长期的OVCAR3细胞以每孔 5×10^3 个接种于96孔板中,分为空白组、Gyp-L(25、50、75、100、125 μ mol \cdot L⁻¹)组。待细胞贴壁后,给予相应药物作用24 h。每孔加入含10% CCK-8的完整培养基,孵育30 min后,

450 nm处进行吸光度A检测。

2.4 细胞划痕实验 将OVCAR3细胞分为空白组、Gyp-L低、高浓度组(50、100 μ mol \cdot L⁻¹)和顺铂组(15 μ mol \cdot L⁻¹)^[21],转染后分为空白组、NC-NUF2组、OE-NUF2组、NC-NUF2+Gyp-L组(100 μ mol \cdot L⁻¹)和OE-NUF2+Gyp-L组(100 μ mol \cdot L⁻¹)。将OVCAR3细胞接种于6孔板上,待细胞融合程度超过90%时划痕,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗脱落细胞。显微镜下采集0、12、24 h划痕图,Image J软件测量划痕间距,评估细胞迁移能力。

2.5 细胞克隆实验 将OVCAR3细胞接种于6孔板上,轻摇使细胞分布均匀后,置于37℃、5% CO₂培养箱中静置培养,当6孔板中出现肉眼可见的细胞克隆时,终止培养。弃去培养基,PBS洗涤细胞1~2次,进行细胞固定与结晶紫染色,室温晾干。

2.6 TUNEL染色检测细胞凋亡 将OVCAR3细胞接种于含无菌细胞爬片的6孔板内,轻轻摇匀后,于37℃、5% CO₂培养箱中培养。完成实验干预后,PBS漂洗1次,4%多聚甲醛固定30 min,再次PBS清洗,加入通透液于室温孵育5 min,PBS清洗2次。避光条件下,滴加TUNEL检测液,37℃避光孵育60 min,PBS清洗3次。滴加4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染料覆盖爬片,室温避光孵育5 min,PBS清洗3次。用镊子取出爬片,封固于滴加抗荧光淬灭封片剂的载玻片上。

2.7 卵巢癌差异表达基因筛选 在GEO数据库中下载数据集GSE12470和GSE14407,分别检索 $|\log_2(\text{差异倍数})| \geq 2$ 及 $P < 0.05$ 的卵巢癌差异表达基因信息,将从2个数据集中筛选出的上调基因和下调基因放入韦恩图中取交集。

2.8 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 将筛选出的卵巢癌差异表达基因放入STRING数据库中,进行PPI分析,分别构建出上调基因和下调基因的蛋白互作网络图,查看蛋白互作关系,并进一步筛选差异表达基因。

2.9 预后生存分析 利用TIMER数据库对上述选取的差异表达基因进行预后分析, $P < 0.05$ 为预后生存分析有统计学意义。

2.10 GEPIA数据库验证基因差异表达水平 GEPIA数据库整合了来自癌症基因组图谱(TCGA)和基因型-组织表达(GTEX)的RNA测序数据,可通过分析特定基因的表达水平与患者生存时间、生存率之间的关联,预测疾病的预后情况,为肿瘤预后研究提供关键生物信息学支持。运用

GEPIA 数据库对上述预后生存有意义的基因进行验证,分析其在卵巢癌组织及配对正常组织中的表达情况。

2.11 Real-time PCR 检测 mRNA 表达水平
TRIzol 法裂解各组细胞,提取 RNA,严格遵循无 RNase 操作。使用 HiFiScript All-in-one RT Master Mix for qPCR 试剂盒进行 RNA 反转录,使用 SuperStar Blue Universal SYBR Master Mix 试剂盒进行 RNA 扩增,反应条件为 95 °C 30 s, 95 °C 15 s, 60 °C 30 s, 40 个循环, 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s。采用甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参,通过 2^{-ΔΔCt} 法分析 mRNA 相对表达水平。目的引物及 NUF2 过表达质粒由博迈德公司合成,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
NUF2	上游 GGCCGGCACTGTAGATTAAC	20
	下游 ACCCGGCAGATAGGCAAAAA	20
MAGT1	上游 CCCACACAGGACACGTGAAT	20
	下游 GGAAGGTTAGGAGGAGCACAA	20
NIPA1	上游 CTAGCTTACACTGCGGTCCC	20
	下游 ATGCACAGGTAGCCCAAAA	20
NIPAL1	上游 ACGTTTCGAACTGCTCGTCT	20
	下游 ATATGGTCCTCCACCCGA	20
GAPDH	上游 AAGAGGGATGCTGCCCTTAC	20
	下游 TACGGCCAAATCCGTTTACA	20
Bcl-2	上游 AAAAATACAACATCACAGAGGAAGT	25
	下游 GTTTCCCCCTTGGCATGAGA	20
Bax	上游 TGATGGACGGGTCCGGG	17
	下游 TGTCCAGCCCATGATGGTTC	20

2.12 Wes 全自动蛋白表达分析系统检测相关蛋白表达 提取细胞蛋白,蛋白定量法(BCA)测定蛋白浓度。使用 0.1×Sample Buffer 将各样本稀释至同一目标浓度。将 5×Master Mix、稀释样本和 0.1×Sample Buffer 按比例混合,95 °C 5 min 变性混合样品。按说明书稀释一抗 NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1(1:50),β-actin、Bcl-2、Bax(1:200),配制发光液。将样本、抗体稀释液、一抗(稀释比 1:200)、发光液等加入对应试剂板指定孔位,2 500 r·min⁻¹ 离心 5 min(离心半径 18 cm)。仪器自检后,将毛细管和试剂板放入仪器,开始运行。

2.13 镁离子含量检测 将 OVCAR3 细胞接种于 6 孔板内。将 Mag-Fluo-4 AM 工作液加入细胞培养

基内,37 °C 避光孵育 60 min, Hanks' 平衡盐溶液清洗 3 次,继续孵育 30 min。荧光显微镜下观察。

2.14 蛋白质合成检测 将 OVCAR3 细胞接种于 6 孔板内。去除培养液, PBS 洗涤 1 次,加入 1×HPG 工作液孵育 30 min, 去除 HPG 工作液, 室温固定 15 min, 去除固定液, 洗涤液洗涤 3 次, 去除洗涤液, 加入通透液室温孵育 15 min, 再洗涤 1 次。去除洗涤液, 加入 Click 反应液, 室温避光孵育 30 min。去除 Click 反应液, 洗涤液洗涤 3 次后, 使用 Hoechst 33342 进行细胞核染色。

2.15 统计学分析 本实验数据均源于至少 3 次重复实验, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用 GraphPad Prism 10.0 软件对数据进行正态性与方差齐性检验, 满足正态分布, 组间比较采用单因素方差分析, 不满足正态分布则采用非参数检验。P<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 不同浓度 Gyp-L 对卵巢癌 OVCAR3 细胞活性的影响 采用 CCK-8 法检测不同浓度 Gyp-L 对 OVCAR3 细胞增殖的影响。结果显示, 与空白组比较, Gyp-L 25~125 μmol·L⁻¹ 浓度组 OVCAR3 细胞活力明显降低(P<0.05)。随着 Gyp-L 浓度逐渐升高, 卵巢癌 OVCAR3 细胞活力逐渐降低(P<0.05)。24 h Gyp-L 对 OVCAR3 细胞的半数抑制浓度(IC₅₀) 为 102.04 μmol·L⁻¹, 因此后续实验选用 100 μmol·L⁻¹ Gyp-L 干预 24 h。见表 2。

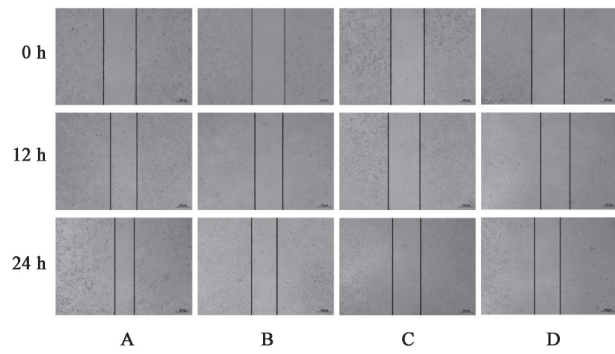
表 2 Gyp-L 对卵巢癌 OVCAR3 细胞活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Gyp-L on activity of ovarian cancer OVCAR3 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	浓度 /μmol·L ⁻¹	细胞生存率/%		
		12 h	24 h	48 h
空白组		100.00±4.37	103.24±4.47	101.67±6.37
Gyp-L 组	25	88.11±7.53 ¹⁾	85.17±6.82 ¹⁾	80.64±4.96 ¹⁾
	50	75.65±5.64 ¹⁾	73.17±2.54 ¹⁾	70.31±6.21 ¹⁾
	75	67.79±5.38 ¹⁾	63.67±7.68 ¹⁾	58.86±6.59 ¹⁾
	100	54.23±5.47 ¹⁾	51.74±2.23 ¹⁾	46.39±5.42 ¹⁾
	125	41.67±7.58 ¹⁾	36.45±6.38 ¹⁾	31.95±4.97 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾P<0.05(表 3-表 5、表 7 同)

3.2 Gyp-L 对 OVCAR3 细胞迁移能力的影响 与空白组比较, Gyp-L 低浓度组、Gyp-L 高浓度组、顺铂组细胞划痕愈合速率明显降低(P<0.05), 表明 Gyp-L 能明显抑制 OVCAR3 细胞迁移能力。划痕结果见图 1、表 3。



注:A.空白组;B.Gyp-L低浓度组;C.Gyp-L高浓度组;D.顺铂组(图2-图4同)

图1 Gyp-L对OVCAR3细胞迁移能力的影响

Fig. 1 Effect of Gyp-L on migration ability of OVCAR3 cells

表3 Gyp-L对OVCAR3细胞迁移能力的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Effect of Gyp-L on migration ability of OVCAR3 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞迁移率/%	
		12 h	24 h
空白组		19.47±0.33	39.86±0.12
Gyp-L低浓度组	50	14.66±0.47 ¹⁾	22.63±1.47 ¹⁾
Gyp-L高浓度组	100	7.08±0.64 ¹⁾	17.19±0.94 ¹⁾
顺铂组	15	10.09±0.73 ¹⁾	21.84±0.54 ¹⁾

3.3 Gyp-L对OVCAR3细胞集落形成能力的影响

与空白组比较,Gyp-L低浓度组、Gyp-L高浓度组、顺铂组细胞集落数量明显降低($P<0.05$),表明Gyp-L能够抑制OVCAR3细胞的增殖能力。见图2、表4。

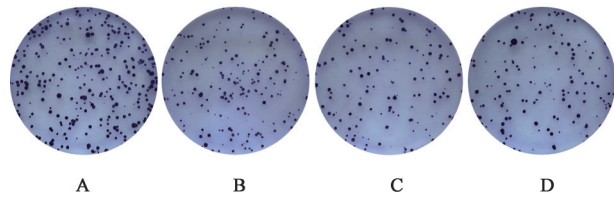


图2 Gyp-L对OVCAR3细胞集落形成能力的影响(结晶紫)

Fig. 2 Effect of Gyp-L on colony forming ability of OVCAR3 cells (crystal violet)

表4 Gyp-L对OVCAR3细胞集落形成能力的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Effect of Gyp-L on colony forming ability of OVCAR3 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞集落数量/个
空白组		281±2
Gyp-L低浓度组	50	170±3 ¹⁾
Gyp-L高浓度组	100	120±3 ¹⁾
顺铂组	15	138±5 ¹⁾

3.4 Gyp-L对OVCAR3细胞凋亡的影响

与空白组比较,Gyp-L低浓度组、Gyp-L高浓度组、顺铂组

OVCAR3细胞TUNEL染色荧光强度明显升高($P<0.05$),反映Gyp-L能够促进OVCAR3细胞凋亡。见图3、表5。

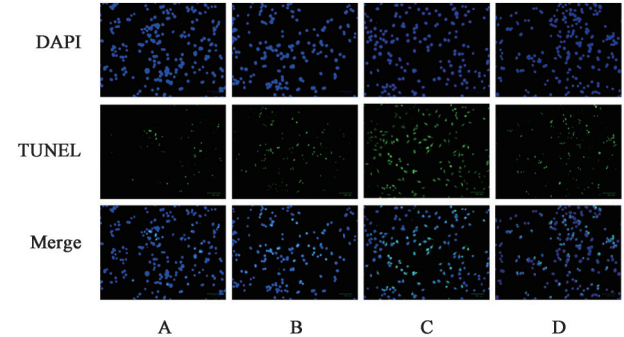


图3 Gyp-L对OVCAR3细胞凋亡的影响(免疫荧光,×200)

Fig. 3 Effect of Gyp-L on apoptosis of OVCAR3 cells (IF,×200)

表5 Gyp-L对OVCAR3细胞凋亡的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of Gyp-L on apoptosis of OVCAR3 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞凋亡率/%
空白组		4.42±0.21
Gyp-L低浓度组	50	18.62±1.72 ¹⁾
Gyp-L高浓度组	100	30.22±3.53 ¹⁾
顺铂组	15	24.26±1.68 ¹⁾

3.5 GEO数据库筛选卵巢癌差异表达基因

在数据集GSE12470中共1020个差异表达基因,包括428个上调基因和592个下调基因;在数据集GSE14407中共1717个差异表达基因,包括694个上调基因和1023个下调基因。通过韦恩分析取GSE12470和GSE14407基因芯片数据的交集。见增强出版附加材料。

3.6 PPI网络构建

绘制上调基因和下调基因的蛋白质网络图查看蛋白互作关系,可见下调差异表达基因具有核心集团,可见其相互作用更加紧密。见增强出版附加材料。

3.7 预后生存分析

为了进一步筛选核心差异表达基因,选取下调基因PPI网络图核心集团中的8个基因,NUF2、CCNB1、CDCA8、BUB1B、ESPL1、BIRC5、KIF20A、AURKA,通过TIMER数据库进行预后生存分析,NUF2和KIF20A预后生存分析差异具有统计学意义($P<0.05$)。见增强出版附加材料。

3.8 GEPIA数据库验证基因差异表达水平

通过GEPIA数据库验证卵巢癌及癌旁组织中RNA差异表达基因的数据,进一步筛选得出差异表达基因在卵巢癌及癌旁组织中的表达水平。NUF2和KIF20A在卵巢癌组织与非癌组织中的表达差异具有统计学意义($P<0.05$)。通过与TIMER数据库

得出的结果比较及查阅文献,最终决定选取 NUF2 基因进行下一步研究。见增强出版附加材料。

3.9 Gyp-L 对 OVCAR3 细胞 NUF2、镁稳态及凋亡相关指标 mRNA 表达的影响

与空白组比较,

Gyp-L 低浓度组、Gyp-L 高浓度组、顺铂组 NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2 mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.01$), Bax mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.01$)。见表 6。

表 6 Gyp-L 对 OVCAR3 细胞 NUF2、镁稳态及凋亡相关指标 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 6 Effect of Gyp-L on mRNA expression of NUF2, magnesium homeostasis-related genes and apoptosis-related genes in OVCAR3 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	NUF2	MAGT1	NIPA1	NIPAL1	Bcl-2	Bax
空白组		1.00±0.05	1.00±0.01	1.00±0.02	1.00±0.02	0.98±0.07	1.01±0.07
Gyp-L 低浓度组	50	0.63±0.09 ¹⁾	0.48±0.06 ¹⁾	0.54±0.07 ¹⁾	0.53±0.06 ¹⁾	0.71±0.04 ¹⁾	1.57±0.08 ¹⁾
Gyp-L 高浓度组	100	0.21±0.03 ¹⁾	0.20±0.02 ¹⁾	0.17±0.03 ¹⁾	0.22±0.02 ¹⁾	0.37±0.03 ¹⁾	2.76±0.12 ¹⁾
顺铂组	15	0.43±0.04 ¹⁾	0.34±0.04 ¹⁾	0.41±0.08 ¹⁾	0.35±0.02 ¹⁾	0.46±0.02 ¹⁾	2.34±0.09 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$

3.10 Gyp-L 对 OVCAR3 细胞 NUF2、镁稳态及凋亡相关指标蛋白表达的影响

与空白组比较, Gyp-L 低浓度组、Gyp-L 高浓度组、顺铂组 NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2 蛋白水平明显降低 ($P<0.05$), Bax 蛋白水平明显升高 ($P<0.05$)。见图 4、表 7。

细胞集落数量明显降低 ($P<0.05$), OE-NUF2 组细胞集落数量明显升高, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$); 与 OE-NUF2 组比较, OE-NUF2+Gyp-L 组细胞集落数量显著降低, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$), 反映出 Gyp-L 可能通过调控 NUF2 抑制 OVCAR3 细胞增殖。见图 5、表 8。

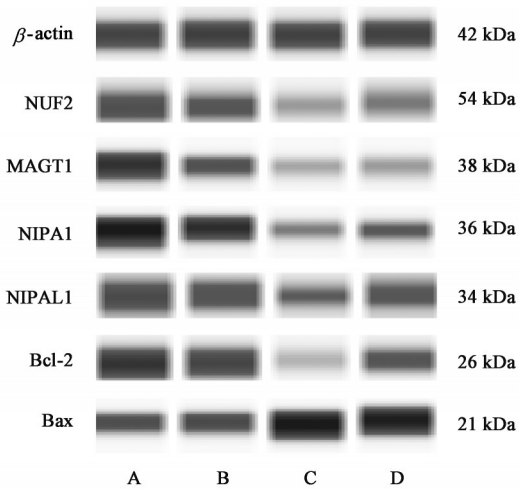
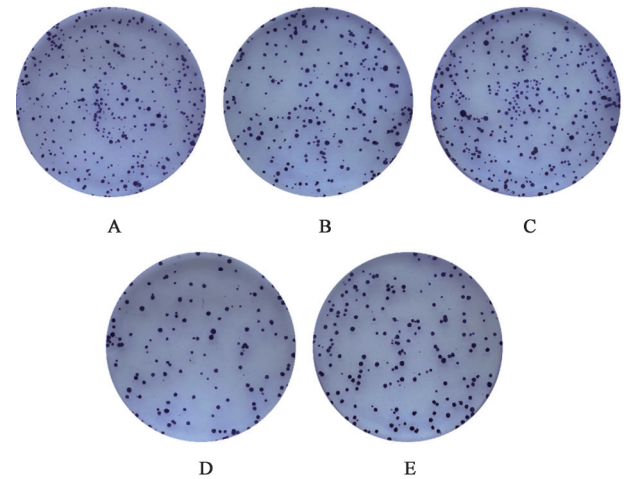


图 4 OVCAR3 细胞 NUF2、镁稳态及凋亡相关指标蛋白表达电泳
Fig. 4 Electrophoresis of NUF2, magnesium homeostasis-related genes and apoptosis-related genes protein expression in OVCAR3 cells

3.11 Gyp-L 调控 NUF2 影响 OVCAR3 细胞集落形成能力

与 NC-NUF2 组比较, NC-NUF2+Gyp-L 组



注: A. 空白组; B. NC-NUF2 组; C. OE-NUF2 组; D. NC-NUF2+Gyp-L 组; E. OE-NUF2+Gyp-L 组 (图 6-图 9 同)

图 5 Gyp-L 调控 NUF2 对 OVCAR3 细胞集落形成能力的影响 (结晶紫)

Fig. 5 Effect of Gyp-L regulates NUF2 to influence colony forming ability of OVCAR3 cells (crystal violet)

表 7 Gyp-L 对 OVCAR3 细胞 NUF2、镁稳态及凋亡相关指标蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 7 Effect of Gyp-L on protein expression of NUF2, magnesium homeostasis-related genes and apoptosis-related genes in OVCAR3 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	NUF2/ β -actin	MAGT1/ β -actin	NIPA1/ β -actin	NIPAL1/ β -actin	Bcl-2/ β -actin	Bax/ β -actin
空白组		0.98±0.02	1.03±0.04	1.00±0.01	1.00±0.01	0.98±0.01	1.00±0.03
Gyp-L 低浓度组	50	0.69±0.04 ¹⁾	0.76±0.03 ¹⁾	0.85±0.01 ¹⁾	0.77±0.01 ¹⁾	0.88±0.02 ¹⁾	1.19±0.09 ¹⁾
Gyp-L 高浓度组	100	0.58±0.01 ¹⁾	0.49±0.01 ¹⁾	0.66±0.02 ¹⁾	0.55±0.02 ¹⁾	0.39±0.01 ¹⁾	1.72±0.05 ¹⁾
顺铂组	15	0.60±0.01 ¹⁾	0.71±0.01 ¹⁾	0.80±0.03 ¹⁾	0.69±0.01 ¹⁾	0.49±0.01 ¹⁾	1.52±0.03 ¹⁾

表8 Gyp-L调控NUF2对OVCAR3细胞集落形成能力的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 8 Effect of Gyp-L regulates NUF2 to influence colony forming ability of OVCAR3 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞集落数量/个
空白组		290 \pm 3
NC-NUF2组		291 \pm 2
OE-NUF2组		341 \pm 2 ¹⁾
NC-NUF2+Gyp-L组	100	125 \pm 3 ¹⁾
OE-NUF2+Gyp-L组	100	257 \pm 8 ²⁾

注:与NC-NUF2组比较¹⁾ $P<0.05$;与OE-NUF2组比较²⁾ $P<0.01$

3.12 Gyp-L调控NUF2影响OVCAR3细胞凋亡

TUNEL染色结果显示,与NC-NUF2组比较,NC-NUF2+Gyp-L组荧光强度明显升高,差异具有统计学意义($P<0.05$),OE-NUF2组荧光强度明显降低($P<0.05$);与OE-NUF2组比较,OE-NUF2+Gyp-L组荧光强度明显升高,差异具有统计学意义($P<0.05$),表明Gyp-L可能通过调控NUF2促进OVCAR3细胞凋亡。见表9、图6。

3.13 Gyp-L调控NUF2影响镁稳态及凋亡相关指标mRNA表达

与NC-NUF2组比较,NC-NUF2+

表9 Gyp-L调控NUF2对OVCAR3细胞凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 9 Effect of Gyp-L regulates NUF2 to influence apoptosis of OVCAR3 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞凋亡率/%
空白组		4.33 \pm 0.14
NC-NUF2组		4.41 \pm 0.05
OE-NUF2组		1.06 \pm 0.05 ¹⁾
NC-NUF2+Gyp-L组	100	28.83 \pm 0.61 ¹⁾
OE-NUF2+Gyp-L组	100	2.63 \pm 0.14 ²⁾

注:与NC-NUF2组比较¹⁾ $P<0.05$;与OE-NUF2组比较²⁾ $P<0.05$

Gyp-L组NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2 mRNA表达显著降低($P<0.01$),Bax mRNA表达显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$),OE-NUF2组NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2 mRNA表达显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$),Bax mRNA表达显著降低,差异具有统计学意义($P<0.01$);与OE-NUF2组比较,OE-NUF2+Gyp-L组NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2 mRNA表达显著降低($P<0.01$),Bax mRNA表达显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$)。见表10。

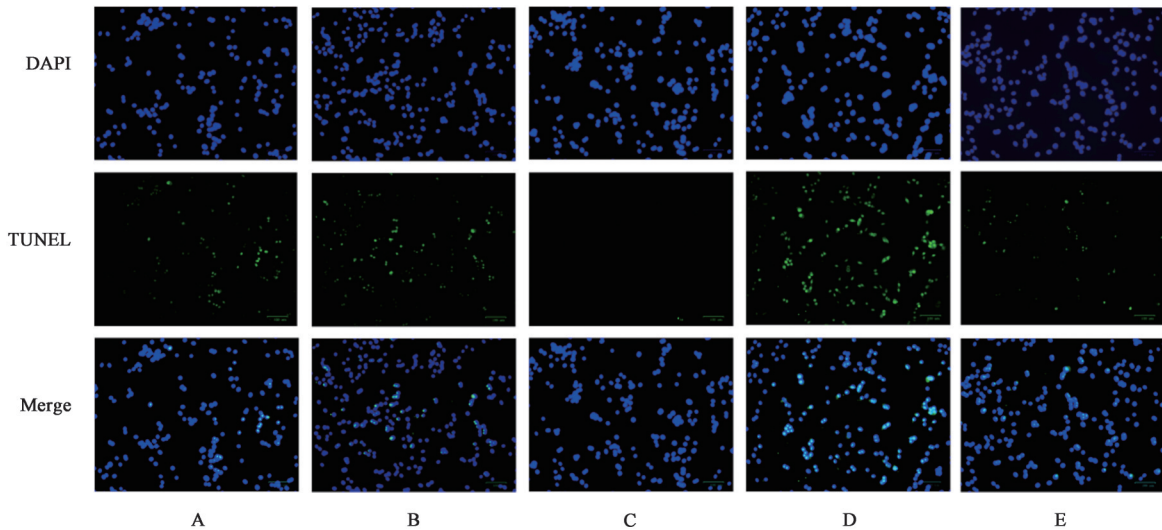


图6 Gyp-L调控NUF2对OVCAR3细胞凋亡影响(IF, $\times 200$)

Fig. 6 Gyp-L regulates NUF2 to influence apoptosis of OVCAR3 cells (IF, $\times 200$)

3.14 Gyp-L调控NUF2影响镁稳态及凋亡相关指标蛋白表达 与NC-NUF2组比较,NC-NUF2+Gyp-L组NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2蛋白表达水平显著降低($P<0.01$),Bax蛋白表达水平显著升高($P<0.01$),OE-NUF2组NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2蛋白表达水平显著升高($P<0.01$),Bax蛋白表达水平显著降低($P<0.01$);与OE-NUF2

组比较,OE-NUF2+Gyp-L组NUF2、MAGT1、NIPA1、NIPAL1、Bcl-2蛋白表达水平明显降低($P<0.05$),Bax蛋白表达水平明显升高($P<0.05$)。见表11、图7。

3.15 Gyp-L调控NUF2影响OVCAR3细胞镁稳态 与NC-NUF2组比较,NC-NUF2+Gyp-L组OVCAR3细胞镁离子含量显著降低($P<0.01$),

表10 Gyp-L调控NUF2对镁稳态及凋亡相关指标mRNA表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 10 Effect of Gyp-L regulates NUF2 expression to influence mRNA expression of magnesium homeostasis-related genes and apoptosis-related genes ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	NUF2	MAGT1	NIPA1	NIPAL1	Bcl-2	Bax
空白组		1.00±0.01	1.00±0.05	1.00±0.01	1.00±0.06	1.00±0.02	1.00±0.02
NC-NUF2组		1.01±0.07	1.00±0.05	1.00±0.05	1.01±0.05	1.00±0.05	0.98±0.05
OE-NUF2组		2.35±0.08 ¹⁾	2.08±0.09 ¹⁾	2.03±0.07 ¹⁾	2.37±0.06 ¹⁾	1.78±0.09 ¹⁾	0.67±0.06 ¹⁾
NC-NUF2+Gyp-L组	100	0.23±0.01 ¹⁾	0.18±0.01 ¹⁾	0.19±0.01 ¹⁾	0.20±0.02 ¹⁾	0.44±0.02 ¹⁾	2.14±0.07 ¹⁾
OE-NUF2+Gyp-L组	100	1.86±0.02 ²⁾	1.30±0.06 ²⁾	1.49±0.07 ²⁾	1.76±0.06 ²⁾	1.44±0.05 ²⁾	0.82±0.06 ²⁾

注:与NC-NUF2组比较¹⁾ $P<0.01$;与OE-NUF2组比较²⁾ $P<0.01$

表11 Gyp-L调控NUF2对镁稳态及凋亡相关指标蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 11 Effect of Gyp-L regulates NUF2 expression to influence protein expression of magnesium homeostasis-related indicators and apoptosis-related indicators ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	NUF2/ β -actin	MAGT1/ β -actin	NIPA1/ β -actin	NIPAL1/ β -actin	Bcl-2/ β -actin	Bax/ β -actin
空白组		1.00±0.01	1.01±0.02	1.01±0.01	1.00±0.02	1.00±0.01	1.00±0.03
NC-NUF2组		0.98±0.03	1.00±0.03	0.98±0.01	1.00±0.02	0.98±0.02	1.04±0.06
OE-NUF2组		1.36±0.02 ¹⁾	1.47±0.01 ¹⁾	1.44±0.06 ¹⁾	1.50±0.04 ¹⁾	1.43±0.02 ¹⁾	0.61±0.01 ¹⁾
NC-NUF2+Gyp-L组	100	0.48±0.05 ¹⁾	0.50±0.03 ¹⁾	0.44±0.03 ¹⁾	0.58±0.02 ¹⁾	0.61±0.03 ¹⁾	1.46±0.04 ¹⁾
OE-NUF2+Gyp-L组	100	1.11±0.07 ²⁾	1.19±0.07 ²⁾	1.25±0.02 ²⁾	1.10±0.06 ²⁾	1.12±0.03 ²⁾	0.84±0.03 ²⁾

注:与NC-NUF2组比较¹⁾ $P<0.01$;与OE-NUF2组比较²⁾ $P<0.05$

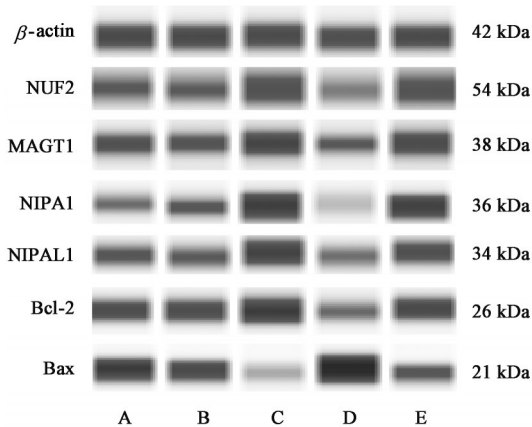


图7 Gyp-L调控NUF2影响镁稳态及凋亡相关指标蛋白表达电泳
Fig. 7 Electrophoresis of Gyp-L regulates NUF2 expression to influence protein expression of magnesium homeostasis-related genes and apoptosis-related genes

OE-NUF2组OVCAR3细胞镁离子含量明显升高($P<0.05$);与OE-NUF2组比较,OE-NUF2+Gyp-L组OVCAR3细胞镁离子含量显著降低($P<0.01$)。见

表12、图8。

表12 Gyp-L调控NUF2对OVCAR3细胞镁稳态的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 12 Effect of Gyp-L regulates NUF2 to influence magnesium homeostasis in OVCAR3 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	总荧光强度
空白组		3 305 300±128 140
NC-NUF2组		3 320 057±192 063
OE-NUF2组		10 604 505±733 955 ¹⁾
NC-NUF2+Gyp-L组	100	1 638 649±112 608 ²⁾
OE-NUF2+Gyp-L组	100	5 661 326±315 986 ³⁾

注:与NC-NUF2组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与OE-NUF2组比较³⁾ $P<0.01$

3.16 Gyp-L调控NUF2影响OVCAR3细胞蛋白质合成 与NC-NUF2组比较,NC-NUF2+Gyp-L组OVCAR3细胞蛋白质合成效率明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),OE-NUF2组OVCAR3细胞

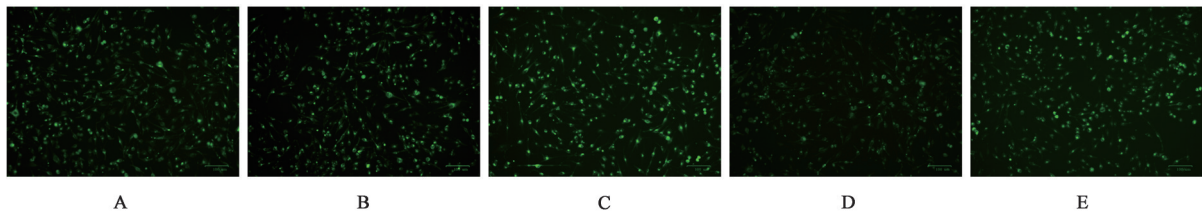


图8 Gyp-L调控NUF2对OVCAR3细胞镁稳态的影响(免疫荧光,×200)

Fig. 8 Effect of Gyp-L regulates NUF2 to influence magnesium homeostasis in OVCAR3 cells (IF, ×200)

蛋白质合成效率显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$);与OE-NUF2组比较,OE-NUF2+Gyp-L组

OVCAR3细胞蛋白质合成效率显著降低($P<0.01$)。见图9、表13。

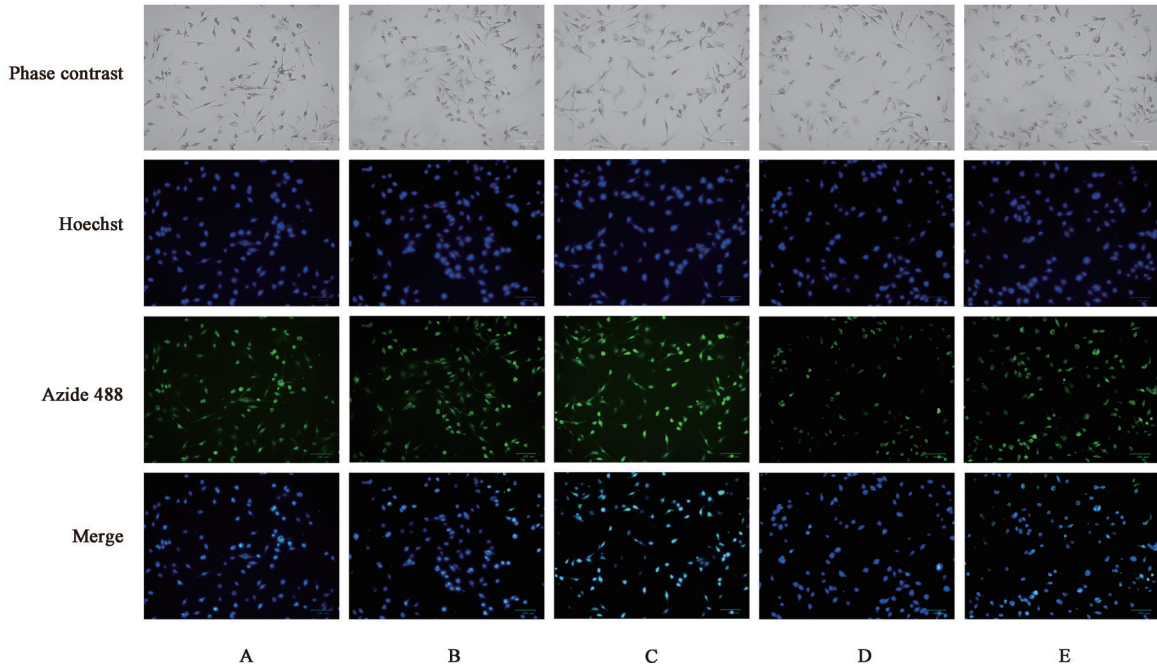


图9 Gyp-L调控NUF2对OVCAR3细胞蛋白质合成的影响(免疫荧光,×200)

Fig. 9 Effect of Gyp-L regulates NUF2 to influence protein synthesis in OVCAR3 cells (IF, ×200)

表13 Gyp-L调控NUF2对OVCAR3细胞蛋白质合成的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 13 Effect of Gyp-L regulates NUF2 to influence protein synthesis in OVCAR3 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	总荧光强度
空白组		1 457 351±151 897
NC-NUF2组		1 485 751±136 879
OE-NUF2组		7 600 786±367 634 ²⁾
NC-NUF2+Gyp-L组	100	739 221±88 692 ¹⁾
OE-NUF2+Gyp-L组	100	2 612 592±334 621 ³⁾

注:与NC-NUF2组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与OE-NUF2组比较³⁾ $P<0.01$

4 讨论

卵巢癌因其高致死率成为妇科恶性肿瘤防治中的严峻挑战,尽管手术联合铂类化疗的方案已取得一定疗效,但耐药复发仍严重制约患者长期生存^[22]。中医药在卵巢癌治疗中具有独特优势,其能缓解临床症状、减轻放化疗不良反应,还能通过抑制癌细胞增殖、促进细胞凋亡等多种途径增强抗肿瘤效果^[23]。此外,中医药有助于改善患者术后生活质量,并在调节机体免疫、提高放化疗药物敏感性方面发挥重要作用^[24]。

Gyp-L作为绞股蓝的主要活性单体之一,近年来被证实多种实体瘤中具有广泛抗肿瘤活性。

在肝细胞癌中,Gyp-L通过干预SREBP2-HMGCS1轴调控胆固醇合成,抑制肿瘤生长^[25];在肺癌中,其可诱导细胞周期阻滞与凋亡^[26];在食管癌中,Gyp-L通过活性氧积累引发内质网应激,导致细胞死亡^[27]。这些研究共同提示,Gyp-L具备多通路、多靶点的调控潜能。本研究首先通过细胞划痕、克隆及TUNEL染色验证,Gyp-L能够显著抑制OVCAR3细胞的迁移与增殖能力,并诱导细胞凋亡。说明Gyp-L在卵巢癌中同样具备较强的抗肿瘤活性。

为进一步阐明其潜在分子靶点,本研究通过生物信息学分析筛选到卵巢癌差异表达基因,结合PPI网络构建、预后生存分析及GEPIA数据库验证,最终选取NUF2作为研究对象。NUF2作为NDC80复合体的核心组分,在保障有丝分裂染色体正确分离中起着关键作用。近年来研究显示,NUF2在胃癌、胆管癌、前列腺癌等多种实体瘤中异常高表达^[28-30],且与患者不良预后密切相关。在卵巢癌中,亦有研究报道NUF2可通过与HNRNPA2B1相互作用激活磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路促进肿瘤发生^[31],提示NUF2可能作为卵巢癌潜在的促癌因子。本研究通过生物信息学分析证实,NUF2在卵巢癌组织中表达显著上调,且其高表达与患者不良预后

相关,这与既往研究结果相一致。镁离子稳态在肿瘤发生发展中扮演重要角色。近年来,镁稳态失衡逐渐被认识为肿瘤发生发展的重要特征之一, Mg^{2+} 能够通过参与调控细胞增殖、蛋白质与DNA合成等关键过程促进肿瘤进展^[32]。研究表明,细胞内 Mg^{2+} 浓度的微小升高即可显著提升蛋白质和DNA的合成效率,为肿瘤细胞快速增殖提供物质基础^[33]。相反,低镁血症则被证实能够抑制血管生成与肿瘤生长^[34]。细胞内 Mg^{2+} 浓度受多种镁转运蛋白调控,其中MAGT1作为特异性镁通道,负责 Mg^{2+} 的跨膜转运^[35],NIPA1与NIPAL1则作为镁转运蛋白,参与维持细胞内镁稳态^[36-37]。NIPA1与癌症患者不良生存相关^[36],敲除MAGT1、NIPAL1能够降低癌细胞增殖和迁移能力,抑制癌症进展^[38]。基于以上背景,本研究进一步探讨Gyp-L是否通过调控NUF2影响镁稳态发挥抗卵巢癌效应。实验结果显示,Gyp-L干预可显著下调OVCAR3细胞中NUF2及镁转运蛋白MAGT1、NIPA1、NIPAL1 mRNA和蛋白的表达水平,同时下调抗凋亡蛋白Bcl-2表达,上调促凋亡蛋白Bax表达。为进一步验证NUF2在该过程的核心作用,构建了NUF2过表达模型。结果显示,NUF2过表达显著上调MAGT1、NIPA1、NIPAL1表达水平,细胞内 Mg^{2+} 含量及蛋白质合成效率随之升高,同时伴随Bcl-2表达上调、Bax表达下调及细胞凋亡率降低,提示NUF2可能通过调控镁转运蛋白表达,升高细胞内 Mg^{2+} 水平,提高蛋白质合成效率,从而为肿瘤细胞增殖提供有利条件,并抑制凋亡信号的激活。值得注意的是,Gyp-L干预能够显著逆转这一效应,下调镁转运蛋白表达,降低细胞内 Mg^{2+} 含量及蛋白质合成效率,最终促进细胞凋亡。这些结果揭示了Gyp-L通过抑制NUF2表达,打破镁稳态发挥抗卵巢癌作用的潜在机制。

综上所述,本研究在课题组前期工作基础上进一步深化了对Gyp-L抗卵巢癌分子机制的认识,首次揭示了NUF2调控镁稳态诱导细胞凋亡抗卵巢癌的分子机制,并阐明了Gyp-L对该机制的关键干预作用。这一发现为卵巢癌的靶向治疗提供了新的潜在靶点,为中医药防治卵巢癌提供了新思路。但本研究结论均基于体外细胞水平实验,且仅在OVCAR3细胞系中得以验证,后续仍需纳入其他卵巢癌细胞系并构建动物模型以验证该机制在体内的抗肿瘤效果。此外,本研究主要采用过表达实验证实NUF2的促癌作用及Gyp-L的干预效果,缺乏敲低实验的补充。未来研究将围绕上述问题深入

展开,以期推动该发现向临床转化,为卵巢癌患者提供新的治疗选择。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] DING Y, HUANG X, JI T, et al. The emerging roles of miRNA-mediated autophagy in ovarian cancer[J]. Cell Death Dis, 2024, 15(5):314.
- [2] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3):229-263.
- [3] XIAO Y, BI M, GUO H, et al. Multi-omics approaches for biomarker discovery in early ovarian cancer diagnosis[J]. EBio Med, 2022, 79:104001.
- [4] MATULONIS UA, SOOD AK, FALLOWFIELD L, et al. Ovarian cancer[J]. Nat Rev Dis Primers, 2016, 2:16061.
- [5] NOWAK M, KLINK M. The role of tumor-associated macrophages in the progression and chemoresistance of ovarian cancer[J]. Cells, 2020, 9:1299.
- [6] ZHANG X, QIU H, LI C, et al. The positive role of traditional Chinese medicine as an adjunctive therapy for cancer[J]. Biosci Trends, 2021, 15(5):283-298.
- [7] LI S, CHEN X, SHI H, et al. Tailoring traditional Chinese medicine in cancer therapy[J]. Mol Cancer, 2025, 24(1):27.
- [8] 徐书杨,杨紫晴,滕菲,等.不同加工方式绞股蓝的抗炎活性比较研究[J].中国中药杂志,2023,48(19):5235-5243.
XU S Y, YANG Z Q, TENG F, et al. Comparative study on lipid-lowering and anti-inflammatory activities of *Gynosteme pentaphylla* in different processing methods. [J]. China J Chin Mater Med, 2023, 48(19):5235-5243.
- [9] 刘剑波,毕小玲,王世华,等.绞股蓝皂苷药理作用研究进展[J].中成药,2024,46(10):3358-3363.
LIU J B, BI X L, WANG S H, et al. Research progress on pharmacological effects of *Gynostemma saponins* [J]. Chin Tradit Pat Med, 2024, 46(10):3358-3363.
- [10] 董元广,宋囡,杨莹,等.绞股蓝皂苷L影响GCK介导的糖酵解途径抗卵巢癌分子机制[J].中国实验方剂学杂志,2025,31(11):118-124.
DONG Y G, SONG N, YANG Y, et al. Study on molecular mechanism of gypenoside L affecting GCK-mediated glycolytic pathway in anti-ovarian cancer [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(11):118-124.
- [11] 杨莹,赵佼,孙小扉,等.绞股蓝皂苷L调控EGFR/STAT3/糖酵解途径对动脉粥样硬化与卵巢癌异病同治的分子机制[J].中国实验方剂学杂志,2025,31(11):125-134.
YANG Y, ZHAO J, SUN X F, et al. Molecular mechanism of treating different diseases with same treatment of gypenoside L affecting oxidative damage HUVEC and OVCAR-3 through EGFR/STAT3/glycolytic pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(11):125-134.
- [12] 朱敬轩,赵佼,王群,等.基于mature-tRNA-Asp-GTC/ATF3-LPCAT3介导的铁死亡途径探讨绞股蓝皂苷L抗卵巢癌的分

- 子机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(11): 107-117.
- ZHU J X, ZHAO J, WANG Q, et al. Exploring molecular mechanism of gypenoside L against ovarian cancer based on ferroptosis pathway mediated by mature-tRNA-Asp-GTC/ATF3-LPCAT3 [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(11): 107-117.
- [13] CHEERAMBATHUR D K, GASSMANN R, COOK B, et al. Crosstalk between microtubule attachment complexes ensures accurate chromosome segregation [J]. Science, 2013, 342(6163): 1239-1242.
- [14] DEMIDOV V M, GONCHAR I V, TRIPATHY S K, et al. Ndc80 complex, a conserved coupler for kinetochore-microtubule motility, is a sliding molecular clutch [J]. Sci Adv, 2025, 11(36): eadx0005.
- [15] NABETANI A, KOUJIN T, TSUTSUMI C, et al. A conserved protein, Nuf2, is implicated in connecting the centromere to the spindle during chromosome segregation: A link between the kinetochore function and the spindle checkpoint [J]. Chromosoma, 2001, 110(5): 322-334.
- [16] JIANG X, JIANG Y, LUO S, et al. Correlation of NUF2 overexpression with poorer patient survival in multiple cancers [J]. Cancer Res Treat, 2021, 53(4): 944-961.
- [17] GRÖBER U, SCHMIDT J, KISTERS K. Magnesium in prevention and therapy [J]. Nutrients, 2015, 7(9): 8199-8226.
- [18] VOLPE S L. Magnesium in disease prevention and overall health [J]. Adv Nutr, 2013, 4(3): 378S-83S.
- [19] WOLF F I, TRAPANI V. Cell (patho) physiology of magnesium [J]. Clin Sci (Lond), 2008, 114(1): 27-35.
- [20] BAO L, GONG Y, CHE Y, et al. Correction: Maintenance of magnesium homeostasis by NUF2 promotes protein synthesis and anaplastic thyroid cancer progression [J]. Cell Death Dis, 2025, 16(1): 166.
- [21] 董元广, 孙莹莹, 袁明殿, 等. 绞股蓝皂苷 L 调控 piR-hsa-2804461/FKBP8/Bcl-2 轴促进细胞凋亡抗卵巢癌机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(11): 98-106.
- DONG Y G, SUN Y Y, YUAN M D, et al. Gypenoside L regulates piR-hsa-2804461/FKBP8/Bcl-2 axis to promote apoptosis and inhibit ovarian cancer [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(11): 98-106.
- [22] GRUNEWALD T, LEDERMANN J A. Targeted therapies for ovarian cancer [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017, 41: 139-152.
- [23] WANG Y, XIE L, LIU F, et al. Research progress on traditional Chinese medicine-induced apoptosis signaling pathways in ovarian cancer cells [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 2): 117299.
- [24] QI F, ZHAO L, ZHOU A, et al. The advantages of using traditional Chinese medicine as an adjunctive therapy in the whole course of cancer treatment instead of only terminal stage of cancer [J]. Biosci Trends, 2015, 9(1): 16-34.
- [25] XIAO M Y, PEI W J, LI S, et al. Gypenoside L inhibits hepatocellular carcinoma by targeting the SREBP2-HMGCS1 axis and enhancing immune response [J]. Bioorg Chem, 2024, 150: 107539.
- [26] XING S F, LIU L H, ZU M L, et al. The inhibitory effect of gypenoside stereoisomers, gypenoside L and gypenoside LI, isolated from *Gynostemma pentaphyllum* on the growth of human lung cancer A549 cells [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 219: 161-172.
- [27] LIAO C, ZHENG K, LI Y, et al. Gypenoside L inhibits autophagic flux and induces cell death in human esophageal cancer cells through endoplasmic reticulum stress-mediated Ca²⁺ release [J]. Oncotarget, 2016, 7(30): 47387-47402.
- [28] LONG B, ZHOU H, XIAO L, et al. Targeting NUF2 suppresses gastric cancer progression through G₂/M phase arrest and apoptosis induction [J]. Chin Med J (Engl), 2024, 137(20): 2437-2451.
- [29] SHAN J, JIANG W, CHANG J, et al. NUF2 drives cholangiocarcinoma progression and migration via inhibiting autophagic degradation of TFR1 [J]. Int J Biol Sci, 2023, 19(5): 1336-1351.
- [30] JIN C, XU J, LUO W, et al. NUF2 activated by YY1 promotes prostate cancer malignancy via p38/MAPK signaling axis and serves as a therapeutic target [J]. Biochem Pharmacol, 2025, 237: 116919.
- [31] REN M, ZHAO H, GAO Y, et al. NUF2 promotes tumorigenesis by interacting with HNRNPA2B1 via PI3K/Akt/mTOR pathway in ovarian cancer [J]. J Ovarian Res, 2023, 16(1): 17.
- [32] TRAPANI V, WOLF F I. Dysregulation of Mg²⁺ homeostasis contributes to acquisition of cancer hallmarks [J]. Cell Calcium, 2019, 83: 102078.
- [33] RUBIN H. Intracellular free Mg²⁺ and MgATP²⁻ in coordinate control of protein synthesis and cell proliferation [M]. In: VINK R, NECHIFOR M, eds. Magnesium in the Central Nervous System. Adelaide (AU): University of Adelaide Press, 2011.
- [34] MAIER J A, NASULEWICZ-GOLDEMAN A, SIMONACCI M, et al. Insights into the mechanisms involved in magnesium-dependent inhibition of primary tumor growth [J]. Nutr Cancer, 2007, 59(2): 192-198.
- [35] WOLF F I, TRAPANI V. MagT1: A highly specific magnesium channel with important roles beyond cellular magnesium homeostasis [J]. Magnes Res, 2011, 24(3): S86-91.
- [36] GOYTAIN A, HINES R M, EL-HUSSEINI A, et al. NIPA1 (SPG6), the basis for autosomal dominant form of hereditary spastic paraplegia, encodes a functional Mg²⁺ transporter [J]. J Biol Chem, 2007, 282(11): 8060-8068.
- [37] MANIALAWY Y, KHAN S R, BHATTACHARJEE A, et al. The magnesium transporter NIPAL1 is a pancreatic islet-expressed protein that conditionally impacts insulin secretion [J]. J Biol Chem, 2020, 295(29): 9879-9892.
- [38] ZHU Y, QI Z, ZU S, et al. NIPAL1 as a prognostic biomarker associated with pancreatic adenocarcinoma progression and immune infiltration [J]. BMC Cancer, 2025, 25(1): 165.

[责任编辑 顾雪竹]