

甘草查尔酮 A 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡的影响

袁永贵¹, 张夏炎¹, 朱晓俊¹, 王伟², 曾海荣², 乐佳敏^{1*}

(1. 海军军医大学长海医院, 上海 200433;

2. 上海市普陀区中心医院, 上海 200062)

[摘要] 目的:观察甘草查尔酮 A 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡的影响,并探讨其可能作用机制。方法:细胞增殖与活性检测(CCK-8)法检测不同浓度甘草查尔酮 A 对 MDA-MB-231 细胞存活率的影响;甘草查尔酮 A(10, 20, 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)作用 MDA-MB-231 细胞 24 h,分别用细胞凋亡试剂盒(Annexin V-FITC/PI)检测细胞凋亡情况;荧光探针法(DCFA-DA)检测细胞内活性氧(ROS)水平,荧光探针(JC-1)法检测细胞线粒体膜电位(MMP);蛋白免疫印迹法(Western blot)检测细胞凋亡相关蛋白 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2), B 细胞淋巴瘤-2 相关 X 蛋白(Bax)的表达及内质网应激相关蛋白(CHOP),转录激活因子 4(ATF4),蛋白激酶 R 样内质网激酶(PERK),磷酸化蛋白激酶 R 样内质网激酶(p-PERK),真核翻译起始因子 2 α (eIF2 α),磷酸化真核翻译起始因子 2 α (p-eIF2 α)表达。结果:与空白组比较,随着甘草查尔酮 A 浓度增大,从甘草查尔酮 A 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 开始,细胞存活率明显降低($P<0.05$),其半数抑制浓度(IC_{50})为 19.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;甘草查尔酮 A(10, 20, 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组细胞凋亡明显升高($P<0.05$),甘草查尔酮 A 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时细胞凋亡率达 30.2%($P<0.05$);甘草查尔酮 A(10, 20, 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)使抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达明显降低($P<0.05$),促凋亡蛋白 Bax 表达明显升高($P<0.05$),且呈浓度依赖性;甘草查尔酮 A(10, 20, 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)明显升高细胞内 ROS 水平($P<0.05$),降低线粒体 MMP 水平($P<0.05$),导致线粒体功能障碍,呈浓度依赖性;甘草查尔酮 A(10, 20, 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)诱导内质网应激,使内质网应激相关蛋白 CHOP, ATF4 表达明显增多,磷酸化(p)-PERK, p-eIF2 α 表达明显升高($P<0.05$),呈浓度依赖性。结论:甘草查尔酮 A 可能通过增加细胞内 ROS 水平,降低 MMP 引起线粒体功能障碍和内质网应激诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡。

[关键词] 甘草查尔酮 A; 乳腺癌; 活性氧; 线粒体膜电位; 内质网应激

[中图分类号] R22; R242; R2-031; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)20-0095-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212022

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210820.1752.007.html>

[网络出版日期] 2021-08-23 15:14

Effect of Licochalcone A on Apoptosis in Human Breast Cancer MDA-MB-231 Cells

YUAN Yong-gui¹, ZHANG Xia-yan¹, ZHU Xiao-jun¹, WANG Wei², ZENG Hai-rong², LE Jia-min^{1*}

(1. Changhai Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200433, China;

2. Shanghai Putuo District Central Hospital, Shanghai 200062, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of licochalcone A (LCA) on apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells, and to explore its possible mechanism. **Method:** MDA-MB-231 cells were treated with LCA of different concentrations, and cell counting kit-8 (CCK-8) assay was used to detect the cell viability. The cells were treated with LCA (10, 20, and 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) for 24 h, and apoptosis was detected by Annexin V staining with fluorescein isothiocyanate (FITC) and propidium iodide (PI) (Annexin V-FITC/PI). The level of intracellular reactive oxygen species (ROS) was detected by 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFA-DA) fluorescent probe. Mitochondrial membrane potential (MMP) was detected by 5, 5', 6, 6'-tetrachloro-1,

[收稿日期] 20210624(017)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81703880, 81703882)

[第一作者] 袁永贵, 药师, 从事医药药理学及肿瘤防治研究, E-mail: yyg8233858@163.com

[通信作者] * 乐佳敏, 药师, 从事临床药理学及肿瘤防治研究, E-mail: 772996014@qq.com

1', 3, 3'-tetraethyl-imidacarbocyanine (JC-1) fluorescence probe. Western blot was used to detect the expression of cell apoptosis-related proteins, such as B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) and Bcl-2-associated X protein (Bax), and endoplasmic reticulum (ER) stress-related proteins, such as C/EBP homologous protein (CHOP), activating transcription factor 4 (ATF4), protein kinase R-like ER kinase (PERK), p-PERK, eukaryotic translation initiation factor 2 alpha (eIF2 α), and p-eIF2 α . **Result:** With the increase in the drug concentration (starting from 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), the cell viability decreased ($P<0.05$) with IC_{50} of 19.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ as compared with the normal group. Additionally, the apoptosis rates of the LCA groups (10, 20, 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) significantly increased ($P<0.05$), which reached 30.2% ($P<0.05$) at LCA concentration of 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. LCA (10, 20, and 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) decreased the expression of Bcl-2 ($P<0.05$) and increased Bax expression ($P<0.05$) in a dose-dependent manner. Besides, the intracellular ROS level was elevated ($P<0.05$) and mitochondrial MMP was reduced ($P<0.05$) after LCA (10, 20, and 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) treatment in a dose-dependent manner, leading to mitochondrial dysfunction. LCA (10, 20, and 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) induced ER stress to up-regulate the expression of CHOP, ATF4, p-PERK, and p-eIF2 α ($P<0.05$) in a dose-dependent manner. **Conclusion:** LCA can induce MDA-MB-231 cell apoptosis by increasing intracellular ROS level and reducing MMP to trigger mitochondrial dysfunction and ER stress.

[Keywords] licochalcone A (LCA); breast cancer; reactive oxygen species; mitochondrial membrane potential; endoplasmic reticulum stress

乳腺癌是女性中最常见的恶性肿瘤,2018年全球每年约有289万新发病例,有62.6万人死亡,已经成为女性生命的主要威胁^[1]。目前,乳腺癌的治疗主要依靠手术、化疗、放疗、内分泌治疗和抗体治疗,虽然标准的治疗和新型的给药系统提高了生存率,但是总体预后仍然不乐观^[2]。目前乳腺癌的临床治疗药物根据其作用机制可分为三类:细胞毒性药物,分子靶向药物和免疫治疗药物,细胞毒性药物通过干扰核酸和(或)蛋白质合成来产生其抗肿瘤效应,但是细胞毒性药物在杀伤肿瘤细胞的同时对正常细胞也有毒性作用,往往会带来比较严重的不良反应^[3],而且细胞耐药性也进一步限制了其运用。因此,寻找对乳腺癌具有安全有效的抗肿瘤药物是至关重要的。

甘草查尔酮A(LCA)是一种天然的查尔酮类化合物,是从我国传统中药甘草中提取的一种成分^[4]。近年来,大量研究显示LCA具有广泛药理活性,前期研究发现LCA可通过抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶-1前体(pro-Caspase-1)剪切,阻断白细胞介素-1 β 前体(pro-IL-1 β)的剪切成熟,最终抑制核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)样受体家族3(NLRP3)炎症小体介导免疫炎症反应,发挥抗炎作用^[5],甘草中主要活性成分黄酮类化合物对革兰阳性菌,革兰阳性芽孢杆菌,真菌等具有较强抑制活性^[6],LCA可激活氧化应激及调控B细胞淋巴瘤-2/B细胞淋巴瘤-2相关X蛋白/剪切的半胱氨酸天冬氨酸蛋白水

解酶3(Bcl-2/Bax/cleaved-Caspase3)信号通路,抑制人结肠癌HCT116细胞增殖,促进细胞凋亡,发挥抗肿瘤作用^[7]。当前LCA对乳腺癌抗肿瘤效果及其作用机制尚不清楚,本研究观察LCA对乳腺癌MDA-MB-231细胞凋亡影响,并探讨其可能作用机制。

1 材料

1.1 细胞 人乳腺癌细胞株MDA-MB-231,购于中科院细胞库。目录号SCSP-5043,传至第12代。

1.2 药品与试剂 LCA(上海麦克林生化科技有限公司,批号76296-75-6,纯度 $\geq 98\%$);细胞增殖与活性检测(CCK-8)法试剂盒,Annexin V-FITC/碘化丙啶(PI)凋亡试剂盒,JC-1荧光探针,DCFH-DA荧光探针,Hoechst 33342染色剂,磷酸盐缓冲液(PBS)(大连美仑生物有限公司,批号分别为MA0218-2, MA0220-2, MA0338, MB4682-1, MA0126, MA0015);1640培养基,胎牛血清(FBS)(美国HyClone公司,批号分别为AAJ206660, SV30087.02);BCA蛋白定量试剂盒(美国Thermo公司,批号23225);Bcl-2, Bax,内质网应激相关蛋白(CHOP),转录激活因子4(ATF4),蛋白激酶R样内质网激酶(PERK),磷酸化蛋白激酶R样内质网激酶(p-PERK),真核翻译起始因子2 α (eIF2 α),磷酸化真核翻译起始因子2 α (p-eIF2 α), β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体,山羊抗兔辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗(美国CST公司,批号分别为

15071S, 89477S, 5554S, 11815S, 5683T, 3179S, 5199S, 5324T, 4970S, 7074S)。

1.3 仪器 1300 SERIES A2型CO₂培养箱, FORMA STERI-CYCLE型超净工作台(美国Thermo公司); Leica SP8型共聚焦显微镜(德国Wetzlar公司); Centrifuge 5810R型离心机(德国Eppendorf公司); Spectramax M型多功能酶标仪(美国BioTek公司); Mini-PROTEAN Tetra System型电泳仪和转膜仪, ChemiDoc MP Imaging System型凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 细胞培养及分组 MDA-MB-231细胞用含10%胎牛血清, 1%青-链霉素的1640培养基, 于37℃, 5%CO₂培养箱培养, 细胞2~3d传代培养。取生长状态良好的对数期细胞进行实验。细胞分为空白组和药物组, 药物组分为LCA低、中、高剂量组, 剂量选择为1/2倍半数抑制浓度(IC₅₀), 1倍IC₅₀, 2倍IC₅₀。

2.2 细胞存活率检测 取状态良好的对数期MDA-MB-231细胞, 以8×10³个/孔接种于96孔板, 于37℃, 5%CO₂培养箱过夜。将细胞分为溶剂组、空白组和药物组, 溶剂组(不含细胞, 只含培养基), 空白组(不含药物, 只含细胞和培养基), 药物组分别以终浓度为0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 μmol·L⁻¹的LCA处理细胞24 h, 每组3个复孔。24 h后每孔加入CCK-8溶液10 μL, 于培养箱继续培养2 h, 酶标仪(450 nm)测吸光度A, 计算细胞存活率, 细胞存活率=(A_{药物}-A_{溶剂})/(A_{空白}-A_{溶剂})×100%; 运用Graphpad 6.0软件计算药物IC₅₀。

2.3 细胞凋亡检测 将生长良好的对数期MDA-MB-231细胞, 以2.5×10⁵个/孔接种于6孔板, 培养过夜。待细胞贴壁后, 分别将终浓度为10, 20, 40 μmol·L⁻¹的LCA处理24 h。用不含EDTA胰酶消化细胞, PBS洗涤, 重悬细胞, 分别加入Annexin V-FITC 5 μL和PI染液5 μL, 室温孵育15 min(避光), 流式仪上机检测, Flow Jo软件处理数据。

2.4 细胞内活性氧(ROS)检测 ROS采用DCFH-DA探针检测, 将生长良好的对数期MDA-MB-231细胞, 以1×10⁵个/mL接种于12孔板, 培养过夜。待细胞贴壁后, 分别将终浓度为10, 20, 40 μmol·L⁻¹的LCA处理24 h。DCFH-DA染液用PBS(1:1 000)稀释成工作液, 每孔加入工作液200 μL, 37℃培养箱中避光孵育30 min, PBS洗涤2次, 倒置荧光显微镜拍照, Image J软件检测荧光强度。

2.5 细胞线粒体膜电位(MMP)检测 采用JC-1探针检测, 将生长良好的对数期MDA-MB-231细胞, 以1×10⁵个/mL接种于共聚焦皿, 培养过夜。待细胞贴壁后, 分别将终浓度为10, 20, 40 μmol·L⁻¹的LCA处理24 h。JC-A探针染液和Hoechst33342染液按说明书配制操作, 37℃培养箱中避光孵育30 min, PBS洗涤2次, 共聚焦显微镜拍照。

2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测相关蛋白表达 将生长良好的对数期MDA-MB-231细胞, 以2.5×10⁵个/mL接种于6孔板, 培养过夜。待细胞贴壁后, 分别将终浓度为10, 20, 40 μmol·L⁻¹的LCA处理24 h。用RIPA(含PMSF蛋白酶抑制剂)裂解液提取蛋白, BCA法测定蛋白浓度, 蛋白变性。蛋白样品20 μg经PAGE凝胶电泳后转至PVDF膜, 5%脱脂牛奶封闭1h, 孵育一抗(1:1 000)(4℃冰箱过夜), 1×TBST洗涤3次, 二抗室温孵育2 h, 采用ECL显影液显色, 凝胶成像系统拍照, Image J软件分析。

2.7 统计学方法 统计采用GraphPad 6.0软件对所有实验数据进行统计分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据方差齐性检验后, 两组间比较采用标准t-test进行, P<0.05表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 LCA对MDA-MB-231细胞存活率的影响 与空白组比较, 随着药物浓度增大, 细胞存活率下降, LCA在浓度>5 μmol·L⁻¹时, 细胞存活率显著降低(P<0.01)。其IC₅₀为19.05 μmol·L⁻¹, 见表1。故选择1/2倍IC₅₀(10 μmol·L⁻¹), 1倍IC₅₀(20 μmol·L⁻¹), 2倍IC₅₀(40 μmol·L⁻¹)3个剂量进行后续实验。

表1 LCA对MDA-MB-231细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Effect of different concentrations of LCA on survival rate in MDA-MB-231 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 组别 | 浓度/μmol·L ⁻¹ | 细胞存活率/% |
|-----|-------------------------|--------------------------|
| 空白 | | 100.00±3.96 |
| LCA | 1.25 | 99.38±1.06 |
| | 2.5 | 94.03±3.83 |
| | 5 | 84.12±2.58 ¹⁾ |
| | 10 | 67.16±3.41 ¹⁾ |
| | 20 | 50.20±4.12 ¹⁾ |
| | 40 | 27.83±6.27 ¹⁾ |
| | 80 | 13.86±3.93 ¹⁾ |

注:与空白组比较¹⁾P<0.05(表2~5同)。

3.2 LCA对MDA-MB-231细胞凋亡的影响 与空白组比较, LCA(10, 20, 40 μmol·L⁻¹)均可诱导细胞

凋亡($P<0.05$), LCA $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时细胞凋亡率达30.2%。见表2。与空白组比较, LCA(10, 20, $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达明显降低, 促凋亡蛋白 Bax 表达明显升高($P<0.05$)。见图1, 表3。

表2 LCA对MDA-MB-231细胞凋亡的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Effect of LCA on apoptosis in MDA-MB-231 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 | | 3.29±1.50 |
| LCA | 10 | 12.62±2.33 ¹⁾ |
| | 20 | 22.28±3.17 ¹⁾ |
| | 40 | 30.19±2.85 ¹⁾ |

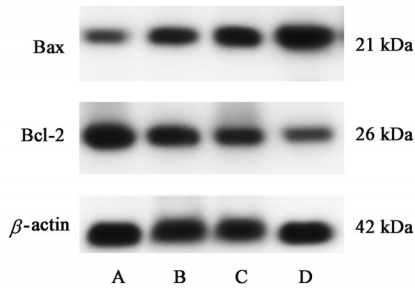


图1 LCA对凋亡相关蛋白电泳

Fig. 1 Electrophoresis of apoptosis-related proteins by LCA

表3 LCA对凋亡相关蛋白的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Effect of LCA on apoptosis-related proteins ($\bar{x}\pm s, n=3$)

| 组别 | 浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | Bcl-2/ β -actin | Bax/ β -actin |
|-----|---------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 空白 | | 1.00±0.11 | 1.00±0.16 |
| LCA | 10 | 0.80±0.06 ¹⁾ | 1.32±0.11 ¹⁾ |
| | 20 | 0.53±0.08 ¹⁾ | 1.61±0.14 ¹⁾ |
| | 40 | 0.28±0.06 ¹⁾ | 1.97±0.11 ¹⁾ |

3.3 LCA对MDA-MB-231细胞MMP的影响 细胞凋亡的早期特征是MMP下降, JC-1探针在MMP正常状态时形成聚合物位于基质中, 呈现红色荧光, JC-1探针在MMP受损时会释放到胞浆中呈现绿色荧光。与空白组比较, LCA(10, 20, $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组红色荧光显著减弱, 绿色荧光显著增强, 说明LCA处理后, 细胞MMP下降。见图2。

3.4 LCA对MDA-MB-231细胞ROS水平的影响

与空白组比较, LCA(10, 20, $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组绿色荧光逐渐增强, 显示细胞内ROS水平增高($P<0.05$), 且呈浓度依赖。见图3, 表4。

3.5 LCA对MDA-MB-231细胞内质网应激途径相关蛋白表达的影响 异常内质网应激可引起细胞凋亡, 与空白组比较, LCA(10, 20, $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组

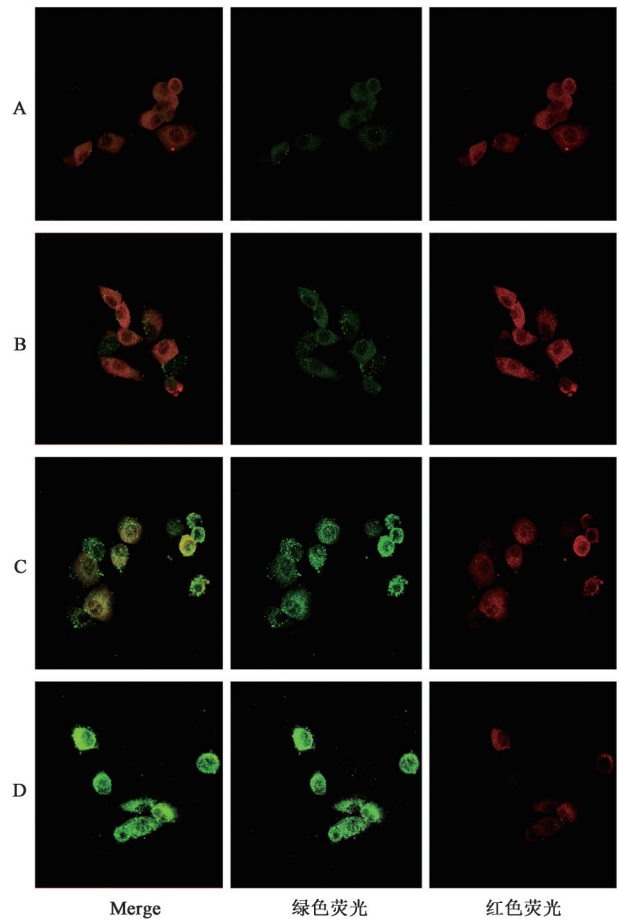


图2 LCA对MDA-MB-231细胞MMP影响(JC-1, $\times 63$)

Fig. 2 Fluorescent image of LCA on MMP in MDA-MB-231 cells (JC-1, $\times 63$)

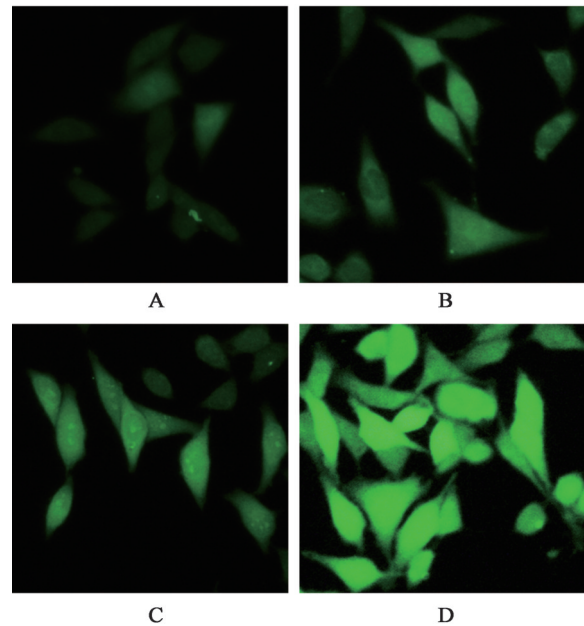


图3 LCA对MDA-MB-231细胞内ROS水平的影响(DCF-DA, $\times 20$)

Fig. 3 Fluorescent image of LCA on intracellular ROS levels in MDA-MB-231 cells (DCF-DA, $\times 20$)

表 4 LCA 对 MDA-MB-231 细胞内 ROS 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 4 Effect of LCA on intracellular ROS levels in MDA-MB-231 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 组别 | 浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ | 相对荧光强度 |
|-----|---|---------------------------------|
| 空白 | | 37.66 \pm 3.71 |
| LCA | 10 | 64.01 \pm 4.60 ¹⁾ |
| | 20 | 91.55 \pm 8.00 ¹⁾ |
| | 40 | 116.76 \pm 5.59 ¹⁾ |

内质网应激相关蛋白 CHOP, ATF4 表达明显增多 ($P < 0.05$), p-PERK, p-eIF2 α 表达明显升高 ($P < 0.05$), 且呈浓度依赖。见图 4, 表 5。

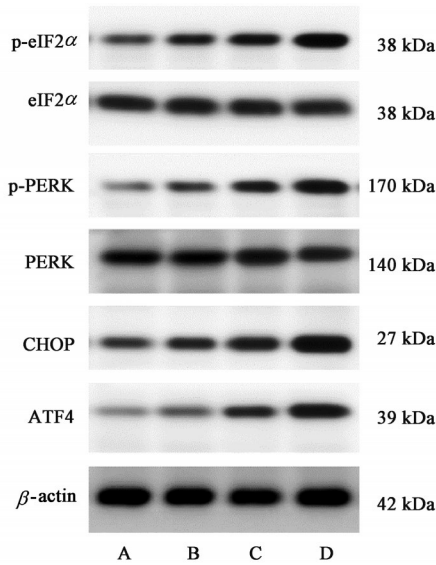


图 4 LCA 对 MDA-MB-231 细胞内质网应激相关蛋白表达的电泳
Fig. 4 Electrophoresis of endoplasmic reticulum stress-related proteins by LCA in MDA-MB-231 cells

4 讨论

凋亡失活对癌症的发生发展及其关键, 靶向凋亡是治疗肿瘤的有效策略。细胞凋亡是一个多步骤的程序性死亡过程, 线粒体功能障碍被认为是诱

导细胞凋亡的早期步骤^[8]。Bcl-2 家族蛋白, 包括 Bcl-2 和 Bax, 通过改变 MMP, 触发细胞色素 C 从线粒体释放到细胞质中, 在细胞凋亡中发挥关键作用^[9]。本研究流式结果发现, LCA 可引起细胞凋亡, 使抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达降低, 促凋亡蛋白 Bax 的表达升高, LCA 能够使乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡。

ROS 参与许多信号通路, 并在细胞活动中起重要作用, 在生理条件下, 维持细胞内适度的 ROS 水平, 对于保持氧化还原平衡和细胞促生长至关重要^[10]。ROS 是内质网应激的关键调节因子, 线粒体 ROS 的重要来源, 细胞内 ROS 的积累促发线粒体膜电位下降, 导致线粒体功能障碍, 诱发细胞内质网应激导致细胞凋亡^[11]。本研究发现 LCA 可以使细胞内 ROS 水平提高, 而且使细胞 MMP 下降, 细胞线粒体功能障碍, 引发乳腺癌 MDA-MB-231 细胞早期凋亡。

内质网是一种亚细胞结构, 对于调节细胞内 Ca²⁺ 稳态, 蛋白质的合成、折叠和成熟中起着关键作用^[12]。一些研究发现内质网应激与细胞凋亡有关, 错误折叠或未折叠蛋白的积累往往会激活内质网应激反应, 当内质网功能严重受损时, 诱发凋亡途径的发生^[13]。内质网应激与包括癌症在内的许多人类疾病有关, 靶向内质网应激的新药物开始出现在抗肿瘤治疗中^[14]。PERK 是调节内质网应激中的关键子, PERK 的激活增加了 eIF2 α 51 位丝氨酸的磷酸化, 从而抑制蛋白的合成, 磷酸化的 eIF2 α 促进 ATF4 和 CHOP 的表达, CHOP 是调节 Bcl-2 家族蛋白表达的关键促凋亡转录因子^[15]。本研究发现 LCA 可引起乳腺癌 MDA-MB-231 细胞内质网应激, 使 p-PERK 和 p-eIF2 α 蛋白激活, PERK 下游蛋白 ATF4 和 CHOP 表达也增多。

表 5 LCA 对 MDA-MB-231 细胞内质网应激相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Effect of LCA on endoplasmic reticulum stress-related protein expression in MDA-MB-231 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 组别 | 浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ | CHOP/ β -actin | ATF4/ β -actin | p-eIF2 α / β -actin | eIF2 α / β -actin | p-PERK/ β -actin | PERK/ β -actin |
|-----|---|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| 空白 | | 1.00 \pm 0.25 | 1.00 \pm 0.16 | 1.00 \pm 0.16 | 1.00 \pm 0.24 | 1.00 \pm 0.21 | 1.00 \pm 0.23 |
| LCA | 10 | 1.28 \pm 0.11 ¹⁾ | 1.32 \pm 0.11 ¹⁾ | 1.46 \pm 0.13 ¹⁾ | 1.13 \pm 0.12 | 1.28 \pm 0.16 ¹⁾ | 1.05 \pm 0.18 |
| | 20 | 1.58 \pm 0.13 ¹⁾ | 2.11 \pm 0.28 ¹⁾ | 1.87 \pm 0.12 ¹⁾ | 1.23 \pm 0.06 | 2.13 \pm 0.12 ¹⁾ | 1.17 \pm 0.08 |
| | 40 | 2.33 \pm 0.30 ¹⁾ | 2.87 \pm 0.17 ¹⁾ | 2.74 \pm 0.10 ¹⁾ | 0.92 \pm 0.08 | 2.95 \pm 0.10 ¹⁾ | 1.08 \pm 0.24 |

综上, LCA 可诱导乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡, 其机制可能与增加细胞内 ROS 水平, 降低 MMP 引起线粒体功能障碍和 p-PERK and p-eIF2 α 蛋白激

活, PERK 下游蛋白 ATF4 和 CHOP 表达也增多引发细胞内质网应激有关。本研究可为乳腺癌的辅助治疗提供一定的实验依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] CAO W, CHEN H D, CHEN W Q, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. *Chin Med J :Engl*, 2021, 134(7): 783-791.
- [2] MATSEN C B, NEUMAYER L A. Neumayer, breast cancer: a review for the general surgeon [J]. *JAMA Surg*, 2013, 148 (10): 971-979.
- [3] HE C, KAWAGUCHI K, TOI M. DNA damage repair functions and targeted treatment in breast cancer [J]. *Breast Cancer*, 2020, 27(3): 355-362.
- [4] 郭婉怡,袁蓓,汪倩,等. 甘草查尔酮A通过调控MAPK信号通路抑制MH7A细胞增殖并诱导凋亡[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(24): 68-74.
- [5] 付书彬,徐广,肖小河,等. 甘草查尔酮A对NLRP3炎症小体的调控作用及机制初探[J]. *药学报*, 2018, 53(12): 2050-2056.
- [6] 张明发,沈雅琴. 甘草抗菌和抗原虫药理研究进展[J]. *临床药物治疗杂志*, 2009, 7(2): 49-53.
- [7] 张九成,陈卫东,邹宁. 甘草查尔酮A调控人结肠癌细胞增殖与凋亡的分子机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(5): 549-554.
- [8] BROWN J M, ATTARDI L D. The role of apoptosis in cancer development and treatment response [J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(3): 231-237.
- [9] ZHENG C, LIU T, LIU H, et al. Role of Bcl-2 family proteins in apoptosis and its regulation by nutrients [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2020, 21 (8) : 799-806.
- [10] MORIS D, SPARTALIS M, THEOCHARIS S, et al. The role of reactive oxygen species in myocardial redox signaling and regulation [J]. *Ann Transl Med*, 2017, 5(16): 324-331.
- [11] KIM J K, KANG K A, HYUN J W, et al. Induction of endoplasmic reticulum stress via reactive oxygen species mediated by luteolin in melanoma cells [J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(5): 2281-2289.
- [12] HAWES C, KIVINIEMI P, KRIECHBAUMER V. The endoplasmic reticulum: a dynamic and well-connected organelle [J]. *J Integr Plant Biol*, 2015, 57 (1): 50-62.
- [13] SCHWARZ D S, BLOWER M D. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(1): 79-94.
- [14] KIM I, XU W, REED J C. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7(12): 1013-1030.
- [15] WALTER P, RON D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation [J]. *Science*, 2011, 334(6059): 1081-1086.

[责任编辑 张丰丰]