

泽兰叶黄素调节 CXCL12/CXCR4 信号轴对肺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

赵晓静, 崔永丽, 薛艳超, 孙婧桦, 李燕涛*

邯郸市中心医院 呼吸与危重症医学科二病区, 河北 邯郸 056000

摘要: **目的** 探讨泽兰叶黄素调节 CXC 趋化因子配体 12 (CXCL12) /CXC 趋化因子受体 4 (CXCR4) 信号轴对肺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。**方法** 体外培养 A549 细胞, 用不同浓度 (0、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$) 泽兰叶黄素处理, 筛选药物作用浓度。将细胞分对照组、泽兰叶黄素 (10、20、40 $\mu\text{mol/L}$) 组、泽兰叶黄素+CXCL12 组。采用平板克隆法检测 A549 细胞增殖情况; 通过划痕愈合率观察细胞迁移; 采用 Western blotting 法检测 CXCL12、CXCR4、G1/S-特异性周期蛋白-D1 (CyclinD1)、基质金属蛋白酶 (MMP)-2、MMP-9 蛋白表达。通过建立裸鼠移植瘤模型, 考察泽兰叶黄素对裸鼠移植瘤的生长和组织内相关蛋白表达的影响。**结果** 选定 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 为泽兰叶黄素作用浓度进行后续实验; 与对照组比较, 泽兰叶黄素组 A549 细胞克隆率、划痕愈合率和侵袭数目显著下降, CXCL12、CXCR4、CyclinD1、MMP-2、MMP-9 蛋白表达显著下调 ($P < 0.05$); 与泽兰叶黄素 40 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, 泽兰叶黄素+CXCL12 组细胞克隆率、划痕愈合率和侵袭数目增加, CXCL12、CXCR4、CyclinD1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达显著上调 ($P < 0.05$)。裸鼠移植瘤实验显示, 与对照组比较, 泽兰叶黄素组裸鼠移植瘤质量和体积下降, 移植瘤组织内 CXCL12 和 CXCR4 蛋白表达显著下调 ($P < 0.05$)。**结论** 泽兰叶黄素可能通过抑制 CXCL12/CXCR4 信号轴蛋白表达, 抑制肺癌细胞增殖、迁移和侵袭速度。

关键词: 泽兰叶黄素; 肺癌; 增殖; 迁移; 侵袭; CXC 趋化因子配体 12 / CXC 趋化因子受体 4 信号轴; G1/S-特异性周期蛋白-D1; 基质金属蛋白酶

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2025)05 - 1106 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.05.003

Effects of eupafolin on proliferation, migration, and invasion of lung carcinoma cells by regulating the CXCL12/CXCR4 signaling axis

ZHAO Xiaojing, CUI Yongli, XUE Yanchao, SUN Jinghua, LI Yantao

Department of Second Ward of Respiratory and Critical Care Medicine, Handan Central Hospital, Handan 056000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of eupafolin on proliferation, migration, and invasion of lung carcinoma cells by regulating the CXCL12/CXCR4 signaling axis. **Methods** A549 cells were cultured *in vitro* and treated with different concentrations (0, 5, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{mol/L}$) of eupafolin to screen for drug action concentrations. The cells were divided into control group, eupafolin (10, 20, 40 $\mu\text{mol/L}$) group, and eupafolin + CXCL12 group. Plate cloning method was applied to detect the proliferation of A549 cells. Scratch healing rate was applied to observe cell migration. Western blotting method was applied to detect the protein expression of CXCL12, CXCR4, CyclinD1, MMP-2, and MMP-9. A nude mouse transplantation tumor model was established, and the effects of eupafolin on the growth of nude mouse transplantation tumors, and the expression of tissue related proteins were investigated. **Results** 10, 20, and 40 $\mu\text{mol/L}$ were selected as the effective concentrations of eupafolin for subsequent experiments. Compared with control group, the cloning rate, scratch healing rate, and invasion number of A549 cells in the eupafolin groups were decreased, the protein expression of CXCL12, CXCR4, CyclinD1, MMP-2, and MMP-9 were downregulated ($P < 0.05$). Compared with eupafolin 40 $\mu\text{mol/L}$ group, the cloning rate, scratch healing rate, and invasion number of A549 cells in eupafolin + CXCL12 group were increased, and the protein expression of CXCL12, CXCR4, CyclinD1, MMP-2, and MMP-9 were upregulated ($P < 0.05$). The experiment of nude mouse transplantation showed that compared with the control group, the quality and volume of the transplanted tumor in the eupafolin group

收稿日期: 2025-02-21

基金项目: 邯郸市科学技术研究与发展计划 (21422083138)

作者简介: 赵晓静, 女, 主治医师, 硕士, 研究方向为呼吸与危重症医学科。E-mail: kowcq2@163.com

*通信作者: 李燕涛, 女, 主治医师, 硕士, 研究方向为呼吸与危重症医学科。E-mail: a69wdo@163.com

decreased, and the expression of CXCL12 and CXCR4 proteins in the transplanted tumor tissue was downregulated ($P < 0.05$).

Conclusion Eupafolin may inhibit the proliferation, migration, and invasion rate of lung carcinoma cells by inhibiting the expression of CXCL12/CXCR4 signaling axis proteins.

Key words: eupafolin; lung carcinoma; proliferation; migration; invasion; CXCL12/CXCR4 signal axis; CyclinD1; MMP

肺癌是世界范围内最常见的癌且病死率最高的癌种之一,其发病率和病死率不断上升,给社会带来巨大负担。肺癌根据病理类型可分为小细胞肺癌和非小细胞肺癌,其中非小细胞肺癌占约 80%。虽然非小细胞肺癌治疗手段很多,但治疗耐药性、肿瘤的可塑性和异质性使得治疗具有挑战性^[1-3]。因此寻求安全可靠的治疗药物具有十分重要的临床意义。泽兰叶黄素是一种天然黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化和抗肿瘤等药理作用^[4-5]。有研究表明,泽兰叶黄素可通过调节黏着斑激酶(FAK)/磷脂酰肌醇激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号轴降低基质金属蛋白酶(MMP)-9 和 Ras 同源基因家族成员 A(RhoA)的表达来调节非小细胞肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[6]。CXC 趋化因子受体 4(CXCR4)是 CXC 趋化因子配体 12(CXCL12)的特异性受体,CXCL12/CXCR4 信号在多种生物学过程中发挥重要作用,如细胞增殖、存活和分化及炎症反应和肿瘤发展^[7-9]。已有研究证明 CXCL12/CXCR4 轴参与结直肠癌的生长、侵袭和转移^[10]。抑制 CXCL12/CXCR4 信号可降低肺癌 A549 细胞迁移^[11]。据报道,CXCL12/CXCR4 通过调控 RhoA 募集免疫细胞和增强细胞骨架重塑,在促进炎性结直肠癌进展中的关键作用^[12]。本研究旨在从细胞水平和裸鼠移植瘤方面探讨泽兰叶黄素对肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭产生的影响及其与 CXCL12/CXCR4 信号轴的调节作用,为抗肺癌药物的寻找提供新的思路和理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

泽兰叶黄素(质量分数 $\geq 98\%$,批号 230106)购自上海源叶生物科技有限公司;Giemsa stain(批号 220609)、CCK-8 试剂盒(批号 220801)均购自中国上海市 MedChemExpress 公司;兔抗基质金属蛋白酶-2(MMP-2,批号 230205)、BCA 试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司;重组人 CXCL12 蛋白(批号 221102)购自英国 Abcam 公司;兔抗 CXCL12(批号 220309)、CXCR4(批号 221006)、G₁/S-特异性周期蛋白-D1(Cyclin D1,批

号 221104)、MMP-9(批号 220611)抗体均购自赛信通(上海)生物试剂有限公司。

VHX-X1 光学显微镜购自基恩士(中国)有限公司;SDS-凝胶电泳仪购自英国 Bio-Rad 公司;Varioskan LUX 多功能酶标仪、CO₂ 细胞培养箱、Nanodrop2000 分光光度计、PVDF 膜(批号 230209)、CXCL12(批号 220915)、ECL 试剂盒(批号 220605)均购自美国 Thermo 公司。

1.2 细胞系和动物

人非小细胞肺癌 A549 细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司。16 只雄性 BALB/c-nu 裸鼠(4~5 周龄,平均体质量 20 g)购自赛业(固安)生物科技有限公司(SCXK(冀)2021-003)。小鼠在实验前适应环境 1 周,并饲养在 12 h/12 h 光暗循环、温度为(25 $\pm$ 2)℃、湿度为(50 $\pm$ 5)%的无病原体环境中,可随意获取食物和水。本研究的动物实验是在动物伦理委员会批准下进行的,经赛业(固安)生物科技有限公司动物实验中心伦理委员会审核批准(伦理批号 2022069)。符合实验室动物管理与使用准则。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养及药物浓度筛选 A549 细胞在含 10%胎牛血清 DMEM 中,于 5% CO₂、37℃中培养,培养基每 2 天更换 1 次,当细胞密度达 85%时进行传代。取对数生长期细胞接种于 96 孔板中,用不同浓度(0、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$)泽兰叶黄素处理,在 24、48、72 h 向各孔中加入 10 μL CCK-8 试剂,继续培养 4 h,采用酶标仪(450 nm 波长)检测各孔细胞吸光度(A)值,计算 A549 细胞存活率。其中空白组加入不接种细胞的培养基,对照组加入接种细胞但未进行泽兰叶黄素处理)。每个浓度均设置 6 个复孔,通过实验结果来筛选合适浓度以进行后续实验。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{药物}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

1.3.2 细胞分组 将 A549 细胞分为对照组、泽兰叶黄素(10、20、40 $\mu\text{mol/L}$)组、泽兰叶黄素+CXCL12 组(40 $\mu\text{mol/L}$ +100 ng/mL),进行后续实验。其中泽兰叶黄素组分别加入 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$

泽兰叶黄素处理 48 h, 泽兰叶黄素+CXCL12 组加入 40 $\mu\text{mol/L}$ 泽兰叶黄素和 100 ng/mL 重组人 CXCL12 蛋白处理 48 h^[13], 对照组细胞正常培养。

1.3.3 平板克隆法检测 A549 细胞增殖情况 将 1.3.2 项下分组后的 A549 细胞分别以每皿 1 000 个细胞的密度接种培养皿中培养, 待细胞形成克隆后, 终止培养。然后洗涤, 用 4%多聚甲醛固定, 加适量 Giemsa stain 应用染色液染色, 晾干。在显微镜(低倍镜)下计克隆数, 并计算克隆率。

克隆率=克隆细胞数/接种细胞数

1.3.4 划痕愈合实验检测 A549 细胞迁移情况 将 1.3.2 项下处理好 A549 细胞, 加 0.25%胰蛋白酶消化, 将 A549 细胞以每孔 1×10^5 个/mL 转接于 6 孔板中培养, 用移液枪枪头在细胞层上划一条直线, 然后 PBS 冲洗 3 次, 去除划下的细胞, 继续培养 48 h, 用显微镜($\times 10$)观察 0、48 h 时划痕宽度(C), 计算细胞划痕愈合率。

划痕愈合率= $(C_{0h} - C_{48h}) / C_{0h}$

1.3.5 Transwell 小室实验检测 A549 细胞侵袭情况 将 1.3.2 项下处理好 A549 细胞进行饥饿处理, Transwell 小室用基质胶包被, 将 A549 细胞消化重悬, 用无胎牛血清培养基调整细胞浓度, 将细胞接种 Transwell 上室, 与培养箱培养 48 h, 甲醛固定, 结晶紫染色。用显微镜观察细胞侵袭情况。选取 5 个视野对染色细胞进行计数, 取平均值记为侵袭细胞数目。

1.3.6 蛋白印迹法(Western blotting)检测蛋白表达情况 收集 1.3.2 项下分组后 A549 细胞, 裂解, 提取各组总蛋白, 用 BCA 试剂盒测其浓度。经 SDS-PAGE 分离, 转膜, 封闭 1 h, 加入稀释比例 1:1 000 的兔抗 CXCL12、CXCR4、CyclinD1、MMP-2、MMP-9, 过夜孵育; 加入相应二抗, 室温孵育。用 ECL 试剂盒显色, Image J 软件分析蛋白条带的灰度值, 计算蛋白相对表达量。

1.3.7 裸鼠移植瘤实验 将裸鼠随机分为对照组和泽兰叶黄素组, 每组 6 只。制备成 A549 细胞悬液。在无菌条件下每只裸鼠 sc 0.2 mL 细胞悬液。接种 5 d 后, 泽兰叶黄素组 ig 40 mg/kg 泽兰叶黄素处理^[14], 对照组 ig 等体积 0.9%氯化钠溶液, 每周 3 次, 每周记录各组小鼠移植瘤体积, 持续 35 d 后, 将小鼠安乐死, 记录移植瘤体质量。移植瘤体积(V)= (长 $\times$ 宽 $\times$ 高)/2。称质量后的移植瘤组织用 RIPA 裂解液提取总蛋白, 采用 Western blotting

法检测移植瘤中 CXCL12、CXCR4 蛋白表达, 方法同 1.3.6 项下。

1.4 数据分析

采用 SPSS 25 进行数据分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用独立样本 t 检验。

2 结果

2.1 泽兰叶黄素药物浓度筛选

使用 0、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$ 泽兰叶黄素处理 A549 细胞后, 浓度在 5 $\mu\text{mol/L}$ 以上时, A549 细胞存活率下降, 见表 1。结果显示, 在 48 h 时, 泽兰叶黄素对 A549 细胞增殖有抑制作用, 其半数抑制浓度(IC_{50})约为 40 $\mu\text{mol/L}$ (图 1)。因此, 本研究选择泽兰叶黄素浓度为 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$, 作为后续实验药物浓度。

表 1 泽兰叶黄素对 A549 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 Effect of eupafolin on the cell survival rate of A549 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

泽兰叶黄素/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞存活率/%		
	24 h	48 h	72 h
0	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00
5	97.80 $\pm$ 1.54	96.21 $\pm$ 2.26	94.36 $\pm$ 2.23
10	84.05 $\pm$ 2.20*	81.85 $\pm$ 2.36*	80.00 $\pm$ 2.34*
20	60.18 $\pm$ 2.33*	58.36 $\pm$ 2.51*	57.11 $\pm$ 1.95*
40	47.75 $\pm$ 2.33*	45.54 $\pm$ 2.03*	43.64 $\pm$ 2.46*
80	45.22 $\pm$ 3.01*	41.65 $\pm$ 2.80*	39.74 $\pm$ 2.70*

与 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group.

2.2 泽兰叶黄素对 A549 细胞克隆、迁移和侵袭的影响

与对照组比较, 泽兰叶黄素(10、20、40 $\mu\text{mol/L}$)组细胞克隆率、划痕愈合率、细胞侵袭数量均显著降低($P < 0.05$)。与泽兰叶黄素 40 $\mu\text{mol/L}$ 组相比, 泽兰叶黄素+CXCL12 组细胞克隆率、划痕愈合率、细胞侵袭数量均显著升高($P < 0.05$), 见图 2~4 和表 2。

2.3 泽兰叶黄素对 A549 细胞相关蛋白表达的影响

与对照组比较, 泽兰叶黄素(10、20、40 $\mu\text{mol/L}$)组 CyclinD1、MMP-2、MMP-9 蛋白表达明显下调($P < 0.05$), 与泽兰叶黄素 40 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, 泽兰叶黄素+CXCL12 组 CyclinD1、MMP-2、MMP-9 蛋白表达显著上调($P < 0.05$), 见图 5、表 3。

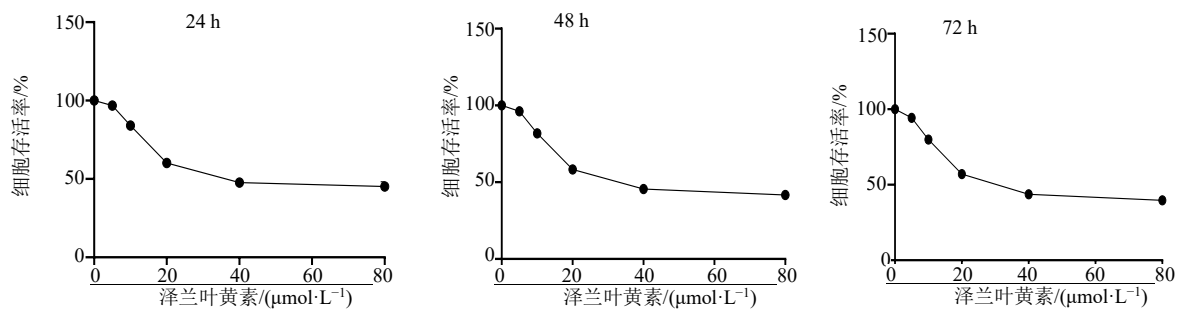
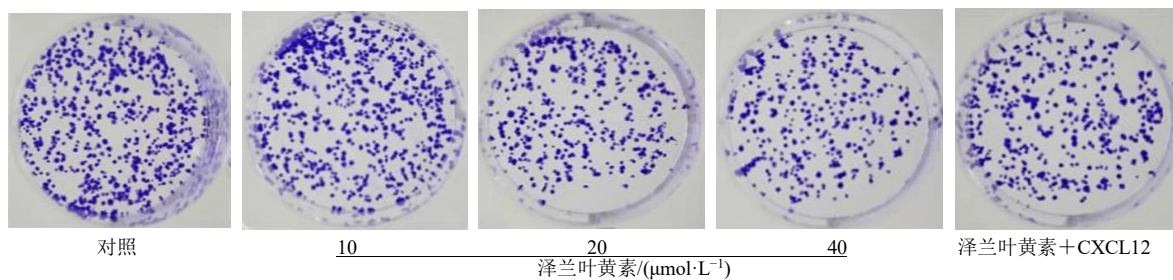
图 1 泽兰叶黄素对 A549 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)Fig. 1 Effects of eupafolin on the proliferation of A549 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

图 2 泽兰叶黄素对 A549 细胞克隆的影响

Fig. 2 Effects of eupafolin on the A549 cell clone

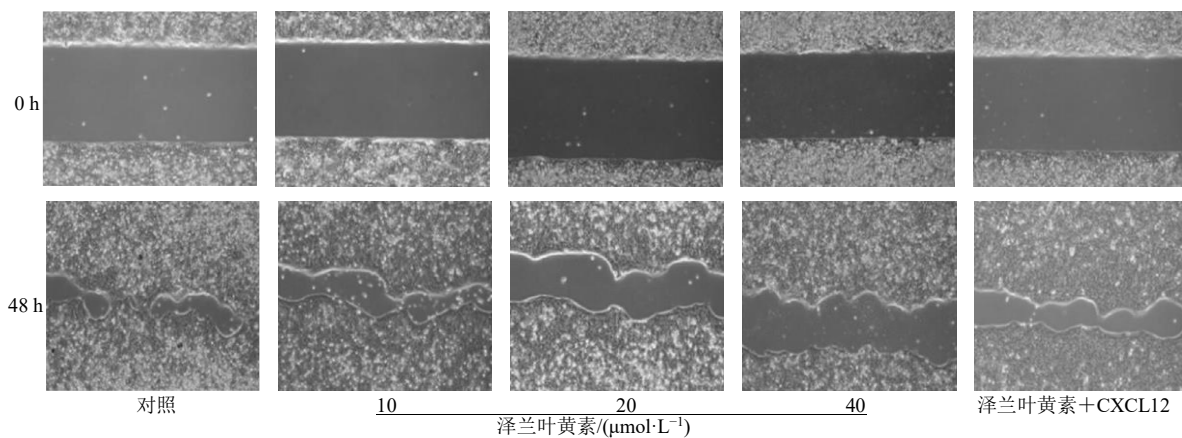


图 3 泽兰叶黄素对 A549 细胞迁移的影响

Fig. 3 Effects of eupafolin on migration of A549 cells

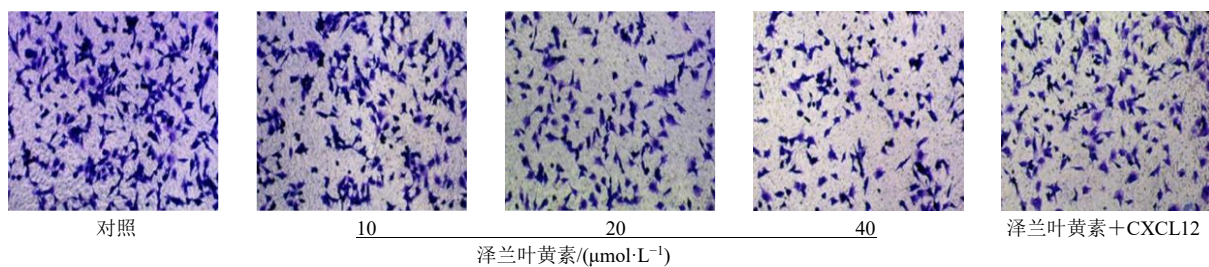


图 4 泽兰叶黄素对 A549 细胞侵袭的影响

Fig. 4 Effects of eupafolin on invasion of A549 cells

表 2 泽兰叶黄素对 A549 细胞克隆、迁移和侵袭的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of eupafolin on the cloning, migration and invasion of A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	克隆率/%	划痕愈合率/%	细胞侵袭数量
对照	—	17.52 $\pm$ 1.75	92.51 $\pm$ 9.12	203.61 $\pm$ 19.57
泽兰叶黄素	10	14.87 $\pm$ 1.48*	80.45 $\pm$ 8.04*	172.34 $\pm$ 17.21*
	20	12.55 $\pm$ 1.25*#	62.34 $\pm$ 6.23*#	136.53 $\pm$ 13.43*#
	40	10.28 $\pm$ 1.02*#&	41.76 $\pm$ 4.16*#&	106.40 $\pm$ 10.52*#&
泽兰叶黄素+CXCL12	40+100 ng·mL ⁻¹	13.83 $\pm$ 1.38@	75.12 $\pm$ 7.41@	167.42 $\pm$ 16.70@

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与泽兰叶黄素 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$; 与泽兰叶黄素 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$; 与泽兰叶黄素 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs eupafolin 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group; & $P < 0.05$ vs eupafolin 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group; @ $P < 0.05$ vs eupafolin 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group.

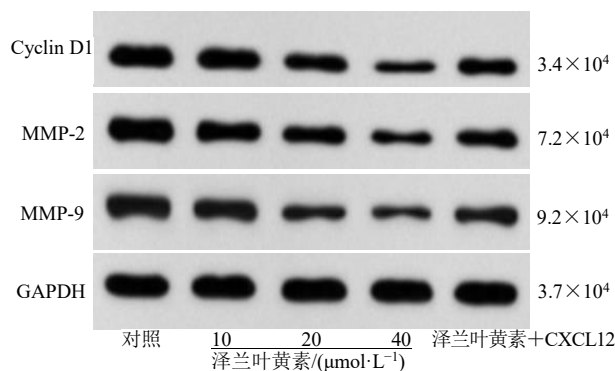


图 5 泽兰叶黄素对 A549 细胞相关蛋白表达的影响

Fig. 5 Effects of eupafolin on the expression of related proteins in A549 cells

表 3 泽兰叶黄素对 A549 细胞相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effects of eupafolin on the expression of related proteins in A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	蛋白相对表达量		
		Cyclin D1	MMP-2	MMP-9
对照	—	0.95 $\pm$ 0.09	1.13 $\pm$ 0.12	0.91 $\pm$ 0.09
泽兰叶黄素	10	0.83 $\pm$ 0.08*	0.81 $\pm$ 0.08*	0.78 $\pm$ 0.07*
	20	0.65 $\pm$ 0.06*#	0.62 $\pm$ 0.06*#	0.58 $\pm$ 0.05*#
	40	0.34 $\pm$ 0.03*#&	0.31 $\pm$ 0.03*#&	0.38 $\pm$ 0.03*#&
泽兰叶黄素+CXCL12	40+100 ng·mL ⁻¹	0.73 $\pm$ 0.07@	0.72 $\pm$ 0.07@	0.70 $\pm$ 0.07@

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与泽兰叶黄素 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$; 与泽兰叶黄素 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$; 与泽兰叶黄素 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs eupafolin 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group; & $P < 0.05$ vs eupafolin 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group; @ $P < 0.05$ vs eupafolin 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group.

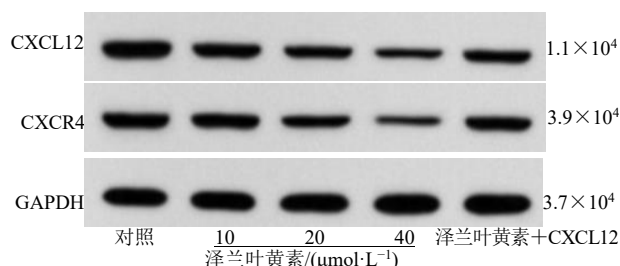


图 6 泽兰叶黄素对 CXCL12/CXCR4 信号轴蛋白表达的影响

Fig. 6 Effects of eupafolin on the protein expression of the CXCL12/CXCR4 signaling axis

2.4 泽兰叶黄素对 CXCL12/CXCR4 信号轴蛋白表达的影响

与对照组比较,泽兰叶黄素(10、20、40 $\mu\text{mol/L}$)组, CXCL12、CXCR4 蛋白相对表达明显下调($P < 0.05$),而与泽兰叶黄素 40 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,泽兰叶黄素+CXCL12 组 CXCL12、CXCR4 蛋白相对表达显著上调($P < 0.05$),见图 6、表 4。

2.5 泽兰叶黄素对裸鼠移植瘤的影响

与对照组比较,泽兰叶黄素组裸鼠移植瘤体积和质量显著降低($P < 0.05$),瘤组织内 CXCL12、CXCR4 蛋白相对表达量显著下调($P < 0.05$),见图 7、表 5。

3 讨论

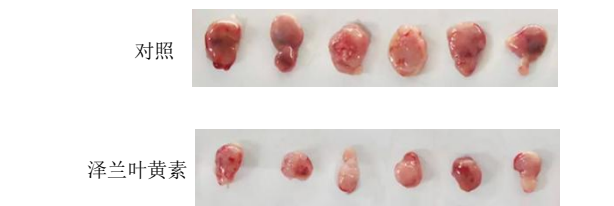
肺癌位居癌症死因的首位,其中非小细胞肺癌在早期诊断难以出来,约 2/3 的患者确诊时已经是晚期,其 5 年生存率不足 15%^[1]。尽管目前治疗晚期非小细胞肺癌的方法有很多,如分子靶向治疗、免疫治疗、以及化疗等,但治疗耐药性、肿瘤的可塑性和异质性使得肺癌的治疗具有很大挑战性。因此寻求安全可靠的治疗药物具有十分重要的临床意义。

表 4 泽兰叶黄素对 CXCL12/CXCR4 信号轴蛋白相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 4 Influence of eupafolin on the relative expression levels of CXCL12/CXCR4 signaling axis proteins ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	蛋白相对表达量	
		CXCL12	CXCR4
对照	—	0.96 $\pm$ 0.09	1.12 $\pm$ 0.15
泽兰叶黄素	10	0.83 $\pm$ 0.08*	0.73 $\pm$ 0.07*
	20	0.70 $\pm$ 0.07*#	0.51 $\pm$ 0.06*#
	40	0.57 $\pm$ 0.05*#&	0.29 $\pm$ 0.04*#&
泽兰叶黄素 + CXCL12	40+100 ng·mL ⁻¹	0.89 $\pm$ 0.08@	0.70 $\pm$ 0.08@

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与泽兰叶黄素 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$; 与泽兰叶黄素 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$; 与泽兰叶黄素 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs eupafolin 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group; & $P < 0.05$ vs eupafolin 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group; @ $P < 0.05$ vs eupafolin 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group.



泽兰叶黄素是一种黄酮类化合物,主要来源于鼠尾草或细叶泽兰中,具有抗炎、抗氧化和抗病毒等多种作用[6]。MMP 可降解细胞外基质,其过度表达能使肿瘤细胞突破基底膜的能力增强,从而对肿瘤细胞的迁移和侵袭起到促进作用[15]。本研究发现,泽兰叶黄素能明显下调增殖蛋白 CyclinD1 及迁移侵袭蛋白 MMP-2、MMP-9 的表达,并抑制肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

趋化因子是一类小分子蛋白家族,具有调控免疫细胞活化和迁移的功能,CXCL12 又称为基质细胞衍生因子[16]。CXCR4 是一种高度保守的 G 蛋白耦联跨膜受体,与 CXCL12 结合后,可以激活下游信号通路,从而促进肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭[17],其在结直肠癌、乳腺癌、胃癌等多个肿瘤细胞中均

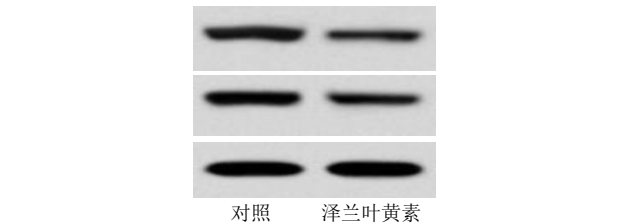


图 7 各组裸鼠移植瘤离体瘤体 (A) 及移植瘤 CXCL12/CXCR4 信号轴蛋白表达 ($n = 6$)
Fig. 7 Isolated tumor maps of transplanted tumors in nude mice (A) and expression of CXCL12/CXCR4 signaling axis proteins in transplanted tumors (B) of each group ($n = 6$)

表 5 泽兰叶黄素对裸鼠移植瘤的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)
Table 5 Effects of eupafolin on transplanted tumors in nude mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	移植瘤质量/g	移植瘤体积/ mm^3	蛋白相对表达量	
			CXCL12	CXCR4
对照	0.83 $\pm$ 0.08	795.38 $\pm$ 78.52	0.95 $\pm$ 0.09	0.92 $\pm$ 0.09
泽兰叶黄素	0.35 $\pm$ 0.03*	387.23 $\pm$ 38.67*	0.56 $\pm$ 0.05*	0.48 $\pm$ 0.04*

与对照组比较: * $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs control group.

有表达[18]。有研究发现,CXCR4/CXCL12 信号轴可以干扰前列腺肿瘤血管生成,成为治疗前列腺癌的新靶点[19];白细胞介素-24 可以通过干扰 CXCL12/CXCR4 轴抑制宫颈癌细胞的迁移和侵袭[13]。本研究在细胞水平和裸鼠移植瘤模型中发现,泽兰叶黄素能明显下调肺癌细胞以及裸鼠移植瘤中 CXCL12、CXCR4 蛋白表达。深入研究发现,重组人 CXCL12 蛋白的添加,使得 CXCL12、CXCR4 表达明显上调,还减弱了泽兰叶黄素对肺癌细胞增殖、迁移、侵袭的阻滞作用,这进一步验证了泽兰叶黄素可能通过调节 CXCL12/CXCR4 信号轴相关

蛋白表达进而抑制肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。综上,泽兰叶黄素可以通过抑制 CXCL12/CXCR4 信号轴,进而抑制肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭,进一步探讨泽兰叶黄素的作用机制,以及其在动物体内的抗肿瘤作用和安全性,为泽兰叶黄素的临床应用提供更加充分的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Doumat G, Daher D, Zerdan M B, *et al.* Drug repurposing in non-small cell lung carcinoma: old solutions for new

- problems [J]. *Curr Oncol*, 2023, 30(1): 704-719.
- [2] 周银杰, 万籽晗, 余沛霜, 等. 黄芪-莪术药对抗肺癌的物质基础及作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(21): 7547-7556.
- [3] Kong F M, Wang C R, Zhao L L, *et al.* Traditional Chinese medicines for non-small cell lung cancer: Therapies and mechanisms [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(4): 509-515.
- [4] 刘水霞, 陈菁华, 王丹, 等. 泽兰叶黄素通过 p38 MAPK 信号通路减轻分泌性中耳炎大鼠炎症 [J]. *山西医科大学学报*, 2023, 54(4): 507-514.
- [5] Chen X W, Yao Z J, Peng X, *et al.* Eupafolin alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury in rats via blocking the TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(6): 5135-5144.
- [6] Wang X, Huang M, Xie W P, *et al.* Eupafolin regulates non-small-cell lung cancer cell proliferation, migration, and invasion by suppressing MMP9 and RhoA via FAK/PI3K/AKT signaling pathway [J]. *J Biosci*, 2023, 48: 1.
- [7] Yan Y D, Su J T, Zhang Z. The CXCL12/CXCR4/ACKR3 response axis in chronic neurodegenerative disorders of the central nervous system: therapeutic target and biomarker [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2022, 42(7): 2147-2156.
- [8] 赵秀萍, 郝秀芳, 朱秀娟. 活血消异方对子宫内位大鼠内膜容受性及 CXCL12/CXCR4 信号通路的作用机制 [J]. *西部医学*, 2022, 34(9): 1296-1301.
- [9] 黄艳平, 黄锦雄. CXCL12/CXCR4 信号轴的生物学特性及其与骨髓瘤关系的研究进展 [J]. *内科*, 2022, 17(4): 425-427.
- [10] 王玉杰, 赵亚孟, 吕振木. 银杏素调节 CXCL12/CXCR4 信号通路对结肠癌细胞恶性生物学行为的影响 [J]. *中国现代普通外科进展*, 2024, 27(4): 270-274.
- [11] Xing B C, Yang L L, Cui Y N. Lidocaine inhibited migration of NSCLCA549 cells via the CXCR4 regulation [J]. *Cancer Biomarker*, 2022, 33(3): 317-330.
- [12] Yu X F, Wang D, Wang X H, *et al.* CXCL12/CXCR4 promotes inflammation-driven colorectal cancer progression through activation of RhoA signaling by sponging miR-133a-3p [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 32.
- [13] 吴海芳, 张海波, 黄素静, 等. 白介素-24 通过干扰 CXCL12/CXCR4 轴抑制宫颈癌细胞迁移和侵袭的机制研究 [J]. *局解手术学杂志*, 2023, 32(2): 96-102.
- [14] Fan X M, Tao J Y, Cai X, *et al.* Eupafolin suppresses esophagus cancer growth by targeting T-LAK cell-originated protein kinase [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1248.
- [15] 叶其淼, 李建强. 基质金属蛋白酶9在非小细胞肺癌中的研究进展 [J]. *中国医药*, 2023, 18(1): 131-134.
- [16] 黄玮, 王旭, 沈志梅, 等. 基质细胞衍生因子-1 在骨质疏松中的作用机制研究进展 [J]. *实用临床医药杂志*, 2022, 26(21): 144-148.
- [17] 袁思敏, 李亚玲, 李长天. CXCL12-CXCR4/CXCR7 轴在胃癌中作用的研究进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2023, 43(9): 1683-1689.
- [18] Yang Y R, Li J Y, Lei W R, *et al.* CXCL12-CXCR4/CXCR7 axis in cancer: From mechanisms to clinical applications [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(11): 3341-3359.
- [19] Heidegger I, Fotakis G, Offermann A, *et al.* Comprehensive characterization of the prostate tumor microenvironment identifies CXCR4/CXCL12 crosstalk as a novel antiangiogenic therapeutic target in prostate cancer [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 132.

【责任编辑 高源】