

参芪扶正注射液通过 PTGS2-BMPER 轴改善 A549 细胞顺铂耐药

于 宁¹, 王 莹¹, 王 淳¹, 王晓开², 薄 威^{2*}

1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847

2. 沈阳医学院, 辽宁 沈阳 110847

摘要: **目的** 探讨参芪扶正注射液 (Shenqi Fuzheng Injection, SFI) 通过前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)-BMP 结合内皮调节因子 (BMP binding endothelial regulator, BMPER) 轴改善 A549 细胞顺铂 (cisplatin, DDP) 耐药性的机制。**方法** 使用 DDP 或 SFI 干预 A549/DDP 细胞, 网络药理学预测 SFI 治疗肺癌的靶点, 通过 GEPIA2 网站预测其下游靶点, 并设置对照组、DDP 组、SFI 组、DDP+SFI 组以及转染质粒组。CCK-8 实验确定 SFI 给药浓度, Edu 实验检测 A549/DDP 细胞增殖情况, Transwell 实验检测 A549/DDP 细胞侵袭情况, 流式细胞术检测 A549/DDP 细胞凋亡率, Western blotting 和 qRT-PCR 检测 PTGS2 和 BMPER 的蛋白和 mRNA 表达水平。建立裸鼠移植瘤模型, 给予 DDP 和 SFI 干预, 免疫组化法检测肿瘤组织 PTGS2 和 BMPER 的表达。**结果** 与对照组比较, DDP 或 SFI 干预组细胞增殖率与侵袭细胞数显著降低 ($P<0.01$), 细胞凋亡率显著升高 ($P<0.01$); 与 DDP 组比较, DDP 联合 SFI 处理组细胞增殖率与侵袭细胞数进一步降低 ($P<0.01$), 细胞凋亡率显著升高 ($P<0.01$)。网络药理学分析得到 PTGS2 为 SFI 治疗肺癌的靶点, 且相较于对照组, DDP 或 SFI 处理以及 DDP 联合 SFI 干预组 A549/DDP 细胞 PTGS2 表达均显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。相较于 DDP+SFI+Vector 组, 过表达 PTGS2 显著诱导 A549/DDP 细胞增殖与侵袭能力 ($P<0.05$), 抑制细胞凋亡率 ($P<0.05$), 相反, 敲减 PTGS2 则抑制 A549/DDP 细胞生长 ($P<0.01$)。相较于 PTGS2-KD+Vector 组, BMPER 过表达促进 A549/DDP 细胞生长 ($P<0.05$ 、 0.01), 并诱导细胞耐药性, 敲减 BMPER 则发挥相反的作用 ($P<0.05$ 、 0.01)。体内实验结果表明, 与模型组比较, DDP 治疗或 DDP 联合 SFI 治疗均显著抑制肿瘤生长 ($P<0.05$ 、 0.01), 相较于 DDP 单独治疗, DDP 联合 SFI 治疗显著抑制移植瘤生长 ($P<0.05$ 、 0.01)。**结论** SFI 通过 PTGS2-BMPER 轴抑制 A549/DDP 细胞 DDP 耐药性。

关键词: 参芪扶正注射液; 肺癌; 顺铂耐药; 前列腺素内过氧化物合酶 2; BMP 结合内皮调节因子

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)23-8634-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.015

Shenqi Fuzheng Injection improves cisplatin resistance in A549 cells via PTGS2-BMPER axis

YU Ning¹, WANG Ying¹, WANG Chun¹, WANG Xiaokai², BO Wei²

1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China

2. Shenyang Medical College, Shenyang 110847, China

Abstract: Objective To investigate the mechanism by which Shenqi Fuzheng Injection (参芪扶正注射液, SFI) improves cisplatin (DDP) resistance in A549 cells through prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2)-BMP binding endothelial regulator (BMPER) axis. **Methods** A549/DDP cells were intervened with DDP and/or SFI. Network pharmacology was used to predict the targets of SFI in treating lung adenocarcinoma, and its downstream targets were predicted via GEPIA2 website. Control group, DDP group, SFI group, DDP + SFI group and transfection plasmid group were set up. The CCK-8 assay was used to determine the SFI concentration, Edu assay was used to detect proliferation of A549/DDP cells, Transwell assay was detected invasion of A549/DDP cells, flow cytometry was used to detect the apoptosis rate of A549/DDP cells, Western blotting and qRT-PCR were used to detect the protein and

收稿日期: 2025-07-07

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82174254); 辽宁省教育厅课题 (LJ212410164016); “岐济” 科研创新团队打造计划项目 (2023QJ01001); 辽宁省科技计划联合计划 (自然科学基金-博士科研启动项目) (2024-BSLH-295)

作者简介: 于 宁, 博士, 研究方向为中医药防治肿瘤。E-mail: 2873184367@qq.com

***通信作者:** 薄 威, 博士, 讲师, 研究方向为中药抗肿瘤作用机制。E-mail: 18640421351@163.com

mRNA expression levels of PTGS2 and BMPER. A nude mouse transplant tumor model was established, and intervened with DDP and SFI, the expressions of PTGS2 and BMPER in tumor tissue were detected by immunohistochemistry. **Results** Compared with control group, DDP or SFI intervention groups reduced cell proliferation and invasion ($P < 0.01$) and elevated apoptosis rate ($P < 0.01$); Compared with DDP group, DDP + SFI combined treatment further decreased proliferation and invasion ($P < 0.01$) and markedly increased apoptosis ($P < 0.01$). Network pharmacology identified PTGS2 as a target of SFI in lung adenocarcinoma, and compared with control group, PTGS2 expressions in A549/DDP cells were significantly decreased after DDP or SFI alone and DDP + SFI combined treatment ($P < 0.05, 0.01$). Compared with DDP + SFI + Vector group, PTGS2 overexpression markedly promoted proliferation and invasion of A549/DDP cells ($P < 0.05$) and inhibited cell apoptosis ($P < 0.05$), whereas PTGS2 knockdown suppressed cell growth ($P < 0.01$). Compared with PTGS2-KD + Vector group, BMPER overexpression enhanced A549/DDP cells growth ($P < 0.05, 0.01$) and induced drug resistance, while BMPER knockdown produced the opposite effects ($P < 0.05, 0.01$). The *in vivo* experimental results showed that compared with model group, DDP treatment or DDP combined with SFI treatment significantly inhibited tumor growth ($P < 0.05, 0.01$). Compared with DDP alone treatment, DDP combined with SFI treatment significantly inhibited the growth of transplanted tumors ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** SFI inhibits DDP resistance in A549/DDP cells via PTGS2-BMPER axis.

Key words: Shenqi Fuzheng Injection; lung adenocarcinoma; cisplatin resistance; prostaglandin-endoperoxide synthase 2; BMP binding endothelial regulator

肺腺癌作为非小细胞肺癌的主要类型，约占肺癌病例总数的 40%，尽管近年来针对化疗、放射疗法以及免疫治疗等多方面进行了显著的临床进步，治疗肺腺癌依然面临着多重挑战。其中，癌细胞产生耐药性被认为是制约治疗成效的关键因素之一^[1]。当前，铂类化疗作为肺腺癌临床治疗及术后辅助治疗的核心策略，其疗效和治疗成功率正受到患者个体间日益增长的耐药性挑战，这一现象已明显降低了铂类化疗在肺腺癌治疗领域的临床效能^[2]。

参芪扶正注射液（Shenqi Fuzheng Injection, SFI）是一种基于传统中医药理论配制的药物制剂，其核心成分为党参和黄芪。依据中医理论，党参具备益气养精、健脾益肺之功效，而黄芪则以其补气固表的作用而著称^[3]。临床研究发现，SFI 有显著的抗癌活性，且 SFI 在与传统化疗药物联合应用时，能够明显提升抗肿瘤治疗的效能，实现协同增效^[4-6]。前列腺素内过氧化物合酶 2（prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2）作为一类在炎症路径及肿瘤生成发展中扮演核心角色的关键酶，其功能与调控机制受到广泛研究关注。在广泛的恶性肿瘤病理进程中，PTGS2 的过度表达与肿瘤细胞的增殖潜能、侵袭能力、转移倾向以及化疗耐药性的发展紧密相关^[7]。BMP 结合内皮调节因子（BMP binding endothelial regulator, BMPER）是一种细胞膜相关蛋白，参与调控多种生物学过程，包括细胞增殖、分化和凋亡^[8]。已有研究发现两者与肺腺癌不良预后相关^[9-10]，但其在肺腺癌细胞耐药性方面

的作用机制尚不清楚。基于前期研究成果，本研究旨在深入探究 SFI 通过 PTGS2-BMPER 信号通路对肺腺癌 A549 细胞耐药性改善作用的分子调控机制，期望为肺腺癌治疗方案的优化提供一定思路和策略。

1 材料

1.1 动物与细胞

24 只 6 周龄 BALB/c 裸鼠，体质量 18~22 g，购自北京维通利华实验动物技术公司，许可证号 SYXK（京）2022-0052，饲养于辽宁中医药大学实验动物中心。动物实验经辽宁中医药大学伦理委员会批准（批准号 21000042022089）。

人非小细胞肺腺癌细胞顺铂（cisplatin, DDP）耐药株 A549/DDP（批号 IMD-008）购自厦门逸漠生物科技有限公司，用含 10% 胎牛血清（fetal bovine serum, FBS）、1% 青霉素-链霉素的 DMEM 培养基，置于 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱内培养。

1.2 药品与试剂

SFI（国药准字 Z19990065，批号 210516）购自广州珠海丽珠制药；DDP（批号 ST1164）、Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒（批号 C1062L）、BCA 试剂盒（批号 P0010）、ECL 试剂盒（批号 P0018S）购自上海碧云天生物技术有限公司；胎牛血清（fetal bovine serum, FBS，批号 SH30071.03）、胰蛋白酶（批号 SH30042.02）、青霉素-链霉素（批号 SV30010）购自美国 Hyclone 公司；CCK-8 试剂盒（批号 96992）购自美国 Sigma-Aldrich 公司；Matrigel 基质胶（批

号 356234)、TRIzol 试剂(批号 R1100)、RIPA 裂解液(批号 R0010)购自北京索莱宝科技有限公司; EdU 染色试剂盒(红色荧光,批号 40276ES60)购自上海翌圣生物科技有限公司; PTGS2 抗体(批号 ab179800)购自英国 Abcam 公司; Lipofectamine™ 3000 试剂盒(批号 L3000150)、BMPER 抗体(批号 PA5-118984)、兔 IgG 二抗(批号 31430)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; PrimeScript RT 试剂盒(批号 RR047Q)、SYBR® Premix Ex Tap™ 混合液(批号 RR003Q)购自日本 TaKaRa 公司。

1.3 仪器

AMR-100 型酶标仪(杭州奥盛仪器有限公司); DMi8 型荧光显微镜、HM340E 型切片机(德国 Leica 公司); BX53 型光学显微镜(日本 Olympus 公司); CytoFLEX 型流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司); LightCycler 480 型 qRT-PCR 仪(美国 Roche 公司)。

2 方法

2.1 网络药理学分析

在 TCMSP 数据库(<http://tcmspw.com/tcmsp.php>)中,以“党参”“黄芪”为关键词检索,共获得 221 个化合物(党参 134 个、黄芪 87 个)。按口服生物利用度(oral bioavailability, OB)≥30%和类药性(drug-likeness, DL)≥0.18 筛选,得到 41 个活性成分。黄芪有 20 个活性成分,其中 17 个有靶标,共 218 个靶标;党参有 21 个活性成分,其中 17 个有靶标,共 111 个靶标。去重后,得到 264 个 SFI 靶点,并用 Cytoscape 软件构建“药物-成分-靶点-疾病”网络。

从 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)的 GEO 数据库中选取 GSE19804、GSE40791 和 GSE118370 数据,以校正后 P 值<0.05 且 $|\log_2$ 差异倍数(fold change, FC)|>1 为条件筛选肺腺癌差异表达基因,共得 4 082 个。通过 Venn 网站(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)对 SFI 靶点与肺腺癌差异表达基因取交集。将交集靶点蛋白输入 String(<https://string-db.org/>)构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络。使用 GEPIA2(<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>)预测相关靶点与肺腺癌患者总生存期的关系,同时分析 PTGS2 的共表达基因。

2.2 细胞分组与处理

设置对照组、DDP 组、SFI 组、DDP+SFI 组。

对照组加入不含药物的培养基;DDP 组加入 23.3 $\mu\text{mol/L}$ 的 DDP 处理 24 h^[11];SFI 组加入 33.5 g/L 的 SFI 处理 24 h;DDP+SFI 组加入 33.5 g/L 的 SFI 与 23.3 $\mu\text{mol/L}$ 的 DDP 处理 24 h^[12]。

为进一步验证分子机制,设置 DDP+SFI+Vector 组(DDP 和 SFI 联合孵育+空载体组)、DDP+SFI+oe-PTGS2 组(DDP 和 SFI 联合孵育+PTGS2 过表达处理组)、PTGS2-NC 组(PTGS2 对照组)、PTGS2-KD 组(PTGS2 敲低组)、PTGS2-KD+Vector 组(PTGS2 敲低+空载体组)、PTGS2-KD+oe-BMPER 组(PTGS2 敲低+BMPER 过表达组)、PTGS2-KD+BMPER-NC 组(PTGS2 敲低+BMPER 对照组)和 PTGS2-KD+BMPER-KD 组(PTGS2 敲低+BMPER 敲低组)。所有转染均在 SFI 与 DDP 干预的 A549/DDP 细胞中进行,转染载体由上海吉凯基因设计并合成,转染过程借助 Lipofectamine 3000 试剂并按照试剂盒说明书实施转染。

2.3 CCK-8 检测细胞活力

A549/DDP 细胞以 5×10^4 个/mL 接种于 96 孔板中,每孔 100 μL 。细胞贴壁后,弃去培养基,加入含不同质量浓度(5、10、20、30、40、50 g/L)SFI 和 23.3 $\mu\text{mol/L}$ DDP 的培养基 100 μL 。另设置对照组(不含药物)和空白组(不接种细胞不含药物)。培养 24 h 后,加入 CCK-8 试剂,使用酶标仪在 450 nm 检测吸光度(A)值,并计算细胞抑制率。

$$\text{细胞抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{给药}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.4 EdU 染色检测细胞增殖

A549/DDP 细胞以 4×10^5 个/孔接种于 96 孔板中,按“2.2”项下方法处理细胞,加入 EdU 工作溶液,孵育 1 h,用 4%中性多聚甲醛固定,然后使用 0.5% Triton X-100 处理 10 min 增强膜通透性。加入 Click-iT 反应混合物避光孵育 30 min,洗涤后染色细胞核,避光孵育 10 min,PBS 洗涤 3 次,于显微镜下观察并拍照,计算细胞增殖率。

$$\text{细胞增殖率} = \text{红色荧光细胞数} / \text{蓝色荧光细胞数}$$

2.5 Transwell 检测细胞侵袭

按“2.2”项下方法处理细胞,收集各组细胞,重悬于无血清的 F-12K 培养基中,以 2.0×10^4 个/孔接种于涂有 Matrigel 的 Transwell 滤膜上层,下层添加含 10%胎牛血清的完全培养基。于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 48 h,去除未侵袭细胞,侵袭细胞用 4%多聚甲醛固定 15 min,再进行结晶紫染色 20 min,最后在显微镜下观察和拍照。

2.6 流式细胞术检测细胞凋亡

按“2.2”项下方法处理细胞,收集各组细胞,使用胰酶消化后离心重悬,每组取 1×10^5 个细胞, $1\,000 \times g$ 离心 5 min,弃去上清并加入结合液重悬细胞,加入 5 μL 的 Annexin V-FITC 和 10 μL 的碘化丙啶 (PI) 染色液,混匀后避光孵育 10 min,使用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.7 Western blotting 检测 PTGS2 和 BMPER 蛋白表达

按“2.2”项下方法处理细胞,收集各组细胞,加入 RIPA 裂解液提取蛋白,用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。蛋白样品经 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至 PVDF 膜,加入 5%脱脂牛奶,室温封闭 1 h,加入一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;TBST 清洗 3 次,每次 10 min,再与 HRP 标记的二抗孵育 1 h。TBST 清洗后,在 ECL 溶液中孵育,使用增强化学发光试剂盒检测信号条带,并用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.8 qRT-PCR 检测 PTGS2 和 BMPER 基因表达

按“2.2”项下方法处理细胞,收集各组细胞,使用 TRIzol 试剂提取总 RNA,溶于 30 μL DEPC 水,测定 RNA 质量后使用 PrimeScript RT 试剂盒在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下对 RNA 进行逆转录反应。随后,将 1 μL cDNA 加入 SYBR[®] Premix Ex Tap[™] 混合液中进行 PCR 扩增,扩增条件按照试剂盒说明书实施,以 GAPDH 作为内参进行归一化处理,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算各基因的相对表达水平。引物序列: GAPDH 上游引物 5'-CGACCACTTTGTCAAGCTCA-3',下游引物 5'-AGGGGTCTACATGGCAACTG-3'; PTGS2 上游引物 5'-GAATGGGGTGATGAGCAGTT-3',下游引物 5'-CAGAAGGGCAGGATACAGC-3', BMPER 上游引物 5'-CAAAAGCAAACCCACGTTTT-3',下游引物 5'-AAAAACACAAAGGCCAGTG-3'。

2.9 裸鼠移植瘤模型的建立与给药

基于人 (70 kg) 与小鼠 (0.020 kg) 之间按体表面积折算的等效剂量比值为 0.002 6,计算出 SFI 在裸鼠给药中的低、高剂量分别为 5.2、10.4 g/kg^[13]。所有裸鼠经过 2 周的适应性喂养后随机分为模型组、DDP (5 mg/kg) 组、DDP+SFI 低剂量 (5.2 g/kg) 组、DDP+SFI 高剂量 (10.4 g/kg) 组,每组 6 只。所有裸鼠 sc 100 μL A549/DDP 细胞 (2×10^6 个/mL) 以形成肿瘤。注射第 8 天开始给药,模型组 ip 生理盐水;DDP 组 ip DDP,每周 1 次;DDP+SFI 低、

高剂量组 ip SFI,每天 1 次,并同时 ip DDP,每周 1 次。接种细胞 26 d 后,裸鼠 ip 1%戊巴比妥钠 (200 mg/kg) 实施安乐死,无菌剥取移植瘤并称定质量,计算各组肿瘤体积。

$$\text{肿瘤体积} = \text{长度} \times \text{宽度}^2 \times 0.5$$

2.10 免疫组化检测肿瘤组织 PTGS2 和 BMPER 表达

取各组小鼠肿瘤组织,经甲醛固定、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋后切成 5 μm 薄片,常规脱蜡至水化。用 0.01 mol/L 柠檬酸缓冲液 (pH 6.0) 进行热诱导抗原修复,切片在暗处用 3%过氧化氢处理 30 min,再用 DAKO 阻断缓冲液室温处理 1 h。滴加一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;滴加 HRP 标记二抗,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h。DAB 显色,苏木素复染,中性胶封闭,光学显微镜下观察并拍照,用 Image Pro-Plus 软件统计平均 A 值。

2.11 统计学分析

使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,并借助 GraphPad Prism 9.0 软件绘制统计图。两组间比较采用 t 检验,多组间数据比较采用单因素方差分析联合 Tukey 事后检验。

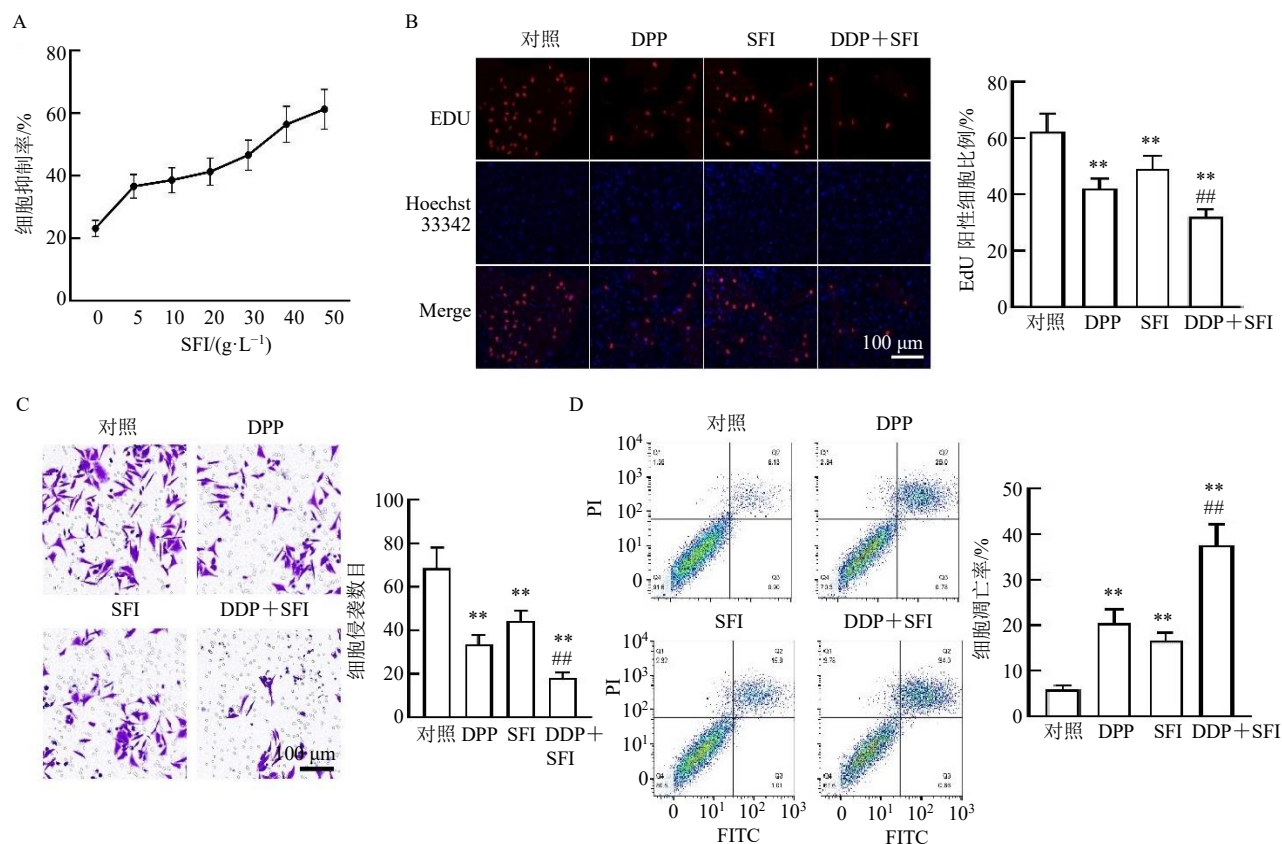
3 结果

3.1 SFI 增强 DDP 对 A549/DDP 细胞生长的抑制作用

课题组前期研究显示,DDP 对 A549/DDP 细胞的 20%抑制浓度 (20% inhibitory concentration, IC₂₀) 为 23.3 $\mu\text{mol/L}$ 。本研究采用 23.3 $\mu\text{mol/L}$ 的 DDP 联合不同质量浓度的 SFI 对 A549/DDP 细胞进行处理,以确定 SFI 的有效质量浓度。CCK-8 实验结果 (图 1-A) 显示,随着 SFI 质量浓度的增加,A549/DDP 细胞的抑制率呈剂量相关性升高。计算得出,SFI 联合 DDP 干预 A549/DDP 细胞的 IC₅₀ 值为 33.5 g/L。因此,在后续实验中,选择 33.5 g/L 的 SFI 进行研究。进一步检测 A549/DDP 细胞增殖、侵袭以及凋亡率 (图 1-B~D),结果显示,与对照组比较,各给药组细胞增殖率与侵袭细胞数显著降低 ($P < 0.01$),细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$);与 DDP 组比较,DDP+SFI 组细胞增殖率与侵袭细胞数进一步降低 ($P < 0.01$),细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$)。

3.2 SFI 治疗肺腺癌的网络药理学分析

以 SFI 主要成分“党参”“黄芪”作为关键词,输入至 TCMSP 平台得到 41 个活性成分,并收集得到 264 个 SFI 的靶点。导入到 Cytoscape 软件构建



A-CCK-8 实验确定 SFI 的给药浓度; B-EdU 实验检测 A549/DDP 细胞的增殖情况 ($\times 200$); C-Transwell 实验检测 A549/DDP 细胞的侵袭能力 ($\times 200$); D-流式细胞术检测 A549/DDP 细胞的凋亡率。与对照组比较: $**P < 0.01$; 与 DPP 组比较: $##P < 0.01$ 。

A-SFI concentration determined by CCK-8 experiment; B-proliferation of A549/DDP cells detected by Edu assay ($\times 200$); C-invasion of A549/DDP cells detected by Transwell assay ($\times 200$); D-apoptosis rate of A549/DDP cells detected by flow cytometry; $**P < 0.01$ vs control group; $##P < 0.01$ vs DPP group.

图 1 SFI 增强 DDP 对 A549/DDP 细胞生长的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 SFI enhances inhibitory effect of DDP on growth of A549/DDP cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

“药物-成分-靶点-疾病”网络 (图 2-A)。选择 GSE19804、GSE40791 和 GSE118370 芯片筛选肺腺癌靶点, 将 SFI 治疗肺腺癌的相关靶点取交集, 共得到 64 个交集靶点 (图 2-B)。将获取到的交集靶点蛋白输入 String 构建交集 PPI 网络 (图 2-C), 结果显示白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、金属基质蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)、PTGS2 和其他靶点联系更紧密。且 KEGG 富集分析显示 (图 2-D), 交集靶点富集最显著的通路为癌症通路 (含 IL-6、MMP9、PTGS2 等)。经 GEPIA2 验证发现仅 PTGS2 高表达与肺腺癌总生存率较差有关 ($HR > 1$, 图 2-E), 而 IL-6、MMP9 未显示出与肺腺癌患者生存有关, 因此选择 PTGS2 作为研究靶点。检测 A549/DDP 细胞中 PTGS2 表达水平 (图 2-F、G), 结果显示, 与对照组比较, DDP 或

SFI 干预显著下调 PTGS2 蛋白和 mRNA 表达 ($P < 0.01$), 而 SFI 联合 DDP 干预进一步下调 PTGS2 蛋白和 mRNA 表达 ($P < 0.05$)。

3.3 过表达 PTGS2 逆转 SFI 诱导的 A549/DDP 细胞耐药敏感性

在 A549/DDP 细胞中转染 PTGS2 过表达质粒, 进一步探究其在 A549/DDP 耐药性的调控作用。细胞转染效率检测结果见图 3-A、B, 相较于 DDP+SFI+Vector 组, oe-PTGS2 转染显著上调细胞中 PTGS2 蛋白和 mRNA 表达水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 说明转染成功。功能性实验结果 (图 3-C~E) 显示, DDP 与 SFI 联合干预显著抑制 A549/DDP 细胞生长 ($P < 0.01$); 相较于 DDP+SFI+Vector 组, 过表达 PTGS2 显著诱导 A549/DDP 细胞增殖与侵袭 ($P < 0.05$), 并抑制细胞凋亡 ($P < 0.05$)。

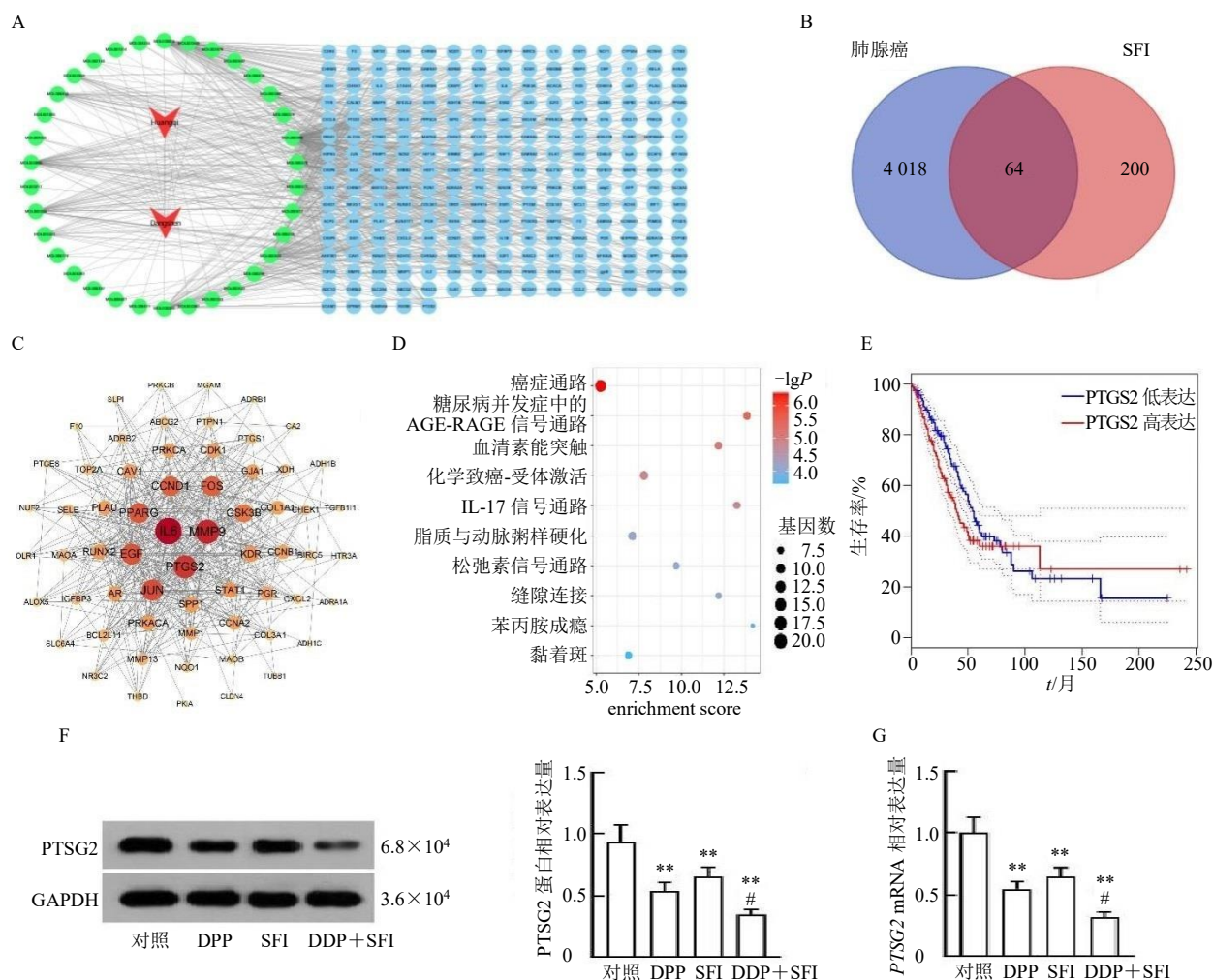


图 2 SFI 治疗肺腺癌的网络药理学分析 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Network pharmacology analysis of SFI in treatment of lung adenocarcinoma ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

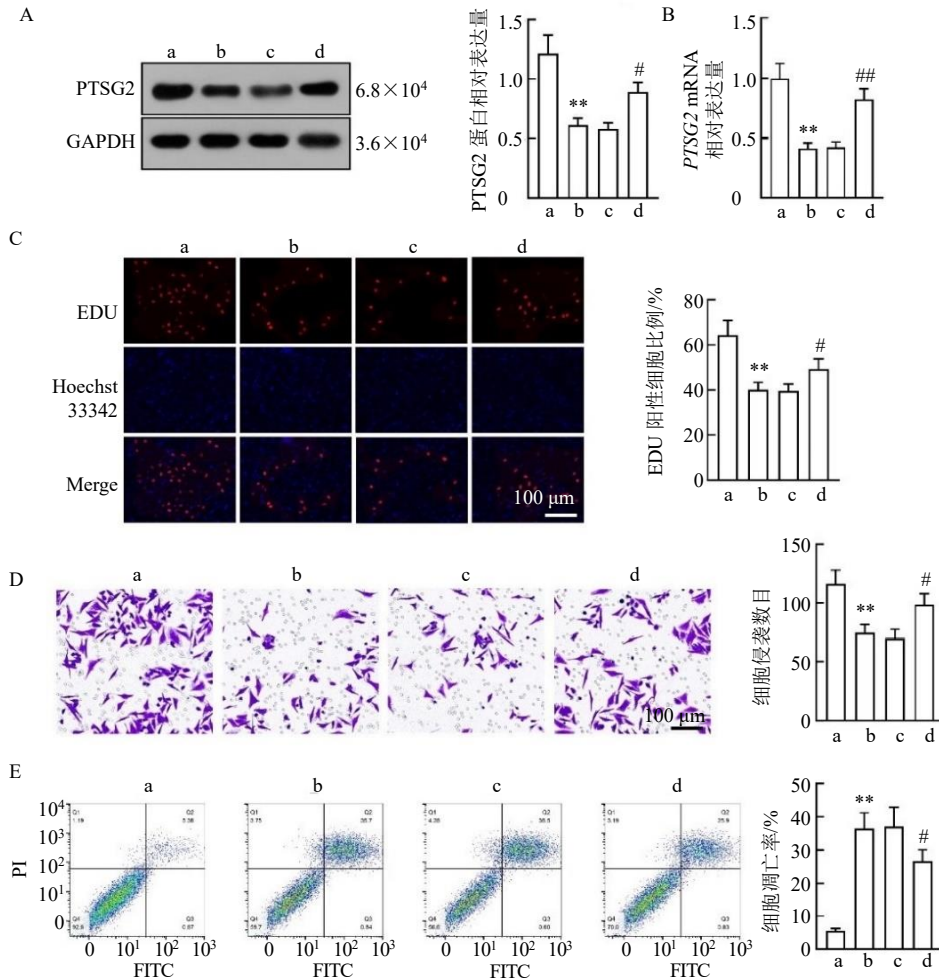
3.4 PTGS2 的潜在下游靶点分析

通过 GEPIA2 的共表达基因分析 PTGS2 的潜在下游靶点，如果一个基因和另一个基因高度共表达，提示二者在转录水平上可能存在一定的关联。分析得到 PTGS2 与 BMPER 的 Pearson 相关系数较高（图 4-A），且研究发现 BMPER 过表达促进肺腺癌细胞增殖与侵袭，因此，选择 BMPER 作为靶点进行分析。检测过表达 PTGS2 后 A549/DDP 细胞中 BMPER 蛋白和 mRNA 表达水平（图 4-B、C），

结果显示，与对照组比较，DDP+SFI 组 BMPER 蛋白和 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.01$)；相较于 DDP+SFI+Vector 组，过表达 PTGS2 显著上调 BMPER 蛋白和 mRNA 表达水平 ($P < 0.01$)。

3.5 PTGS2 调控 BMPER 影响 A549/DDP 细胞生长

细胞转染效率检测结果（图 5-A、B）显示，转染 sh-PTGS2 显著下调 A549/DDP 细胞 PTGS2 和 BMPER 蛋白和 mRNA 表达水平 ($P < 0.01$)，而转染 oe-BMPER 和 sh-BMPER 对细胞中 PTGS2 水平

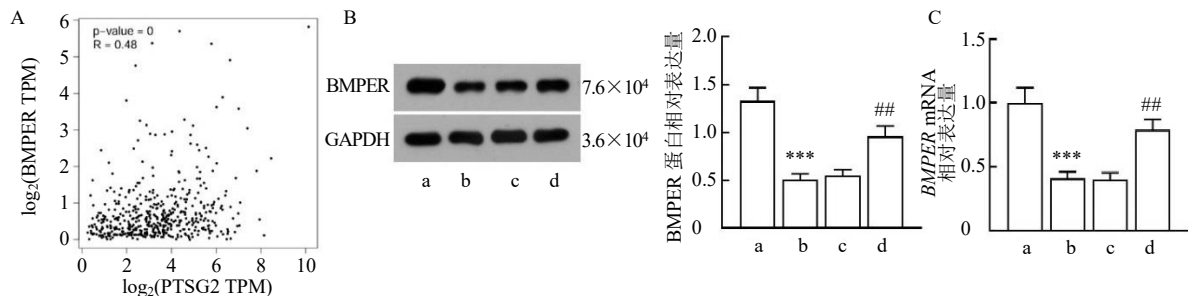


A-PTGS2 蛋白表达水平; B-PTGS2 mRNA 表达水平; C-EdU 实验检测 A549/DDP 细胞的增殖情况 ($\times 200$); D-Transwell 实验检测 A549/DDP 细胞的侵袭能力 ($\times 200$); E-流式细胞术检测 A549/DDP 细胞的凋亡率; a-对照组; b-DDP + SFI 组; c-DDP + SFI + Vector 组; d-DDP + SFI + oe-PTGS2 组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与 DDP + SFI + Vector 组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 图 4 同。

A-PTGS2 protein expression level; B-PTGS2 mRNA expression level; C-proliferation of A549/DDP cells detected by Edu assay ($\times 200$); D-invasion of A549/DDP cells detected by Transwell assay ($\times 200$); E-apoptosis rate of A549/DDP cells detected by flow cytometry; a-control group; b-DDP + SFI group; c-DDP + SFI + Vector group; d-DDP + SFI + oe-PTGS2 group; ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs DDP + SFI + Vector group; same as Fig. 4.

图 3 过表达 PTGS2 逆转 SFI 诱导的 A549/DDP 细胞耐药敏感性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Overexpression of PTGS2 reverses resistance sensitivity induced by SFI in A549/DDP cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

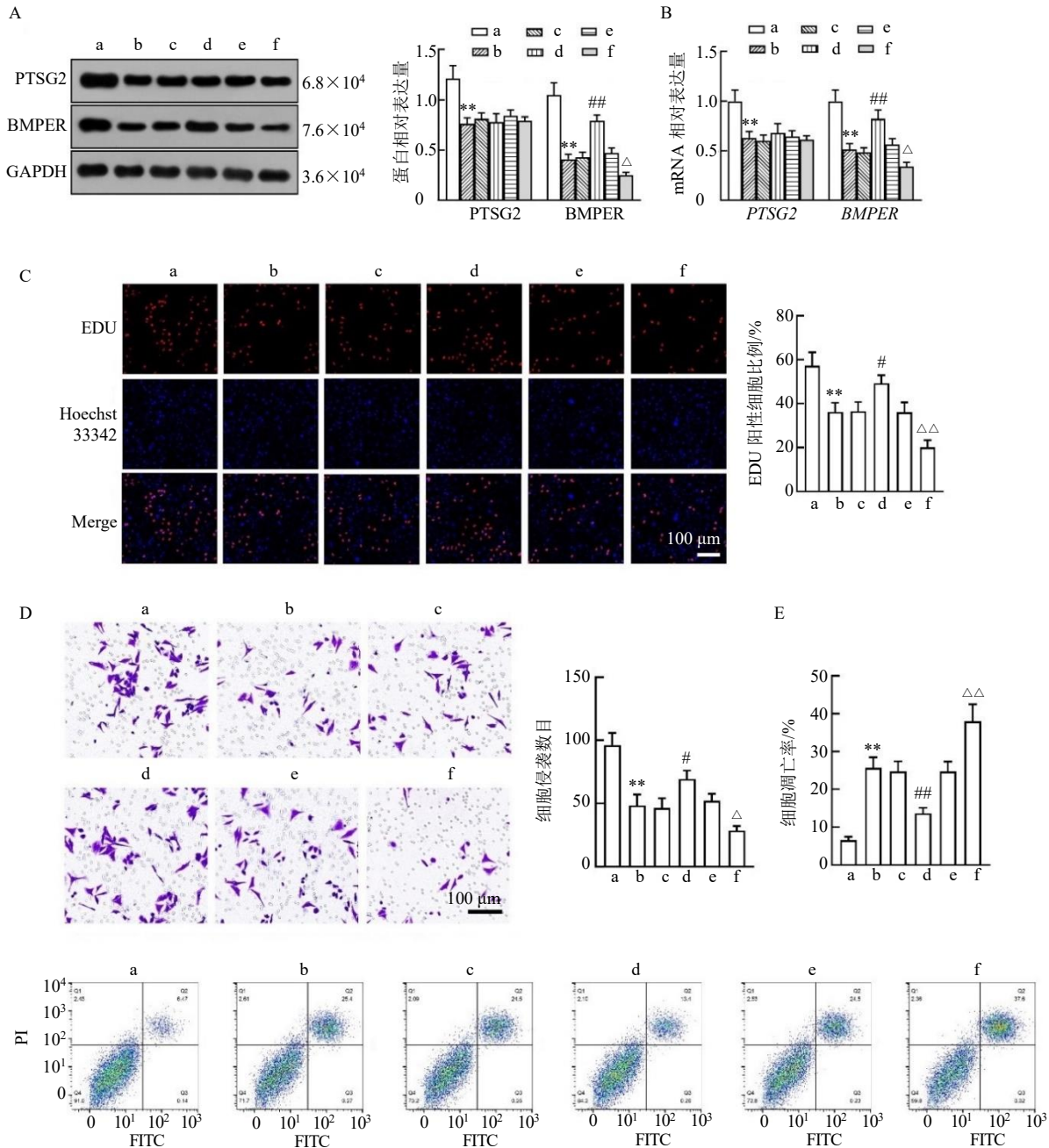


A-PTGS2 与 BMPER 的皮尔逊相关性预测结果; B-Western blotting 检测 A549/DDP 细胞中 BMPER 蛋白表达水平; C-qRT-PCR 检测 A549/DDP 细胞中 BMPER mRNA 表达水平。

A-Pearson prediction result of PTGS2 and BMPER; B-BMPER protein expression level in A549/DDP cells detected by Western blotting; C-BMPER mRNA expression level in A549/DDP cells detected by qRT-PCR.

图 4 PTGS2 下游靶点分析 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Downstream target analysis of PTGS2 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



A-Western blotting 检测细胞中 PTGS2 和 BMPER 蛋白表达; B-qRT-PCR 检测细胞中 *PTGS2* 和 *BMPER* mRNA 表达; C-Edu 实验检测 A549/DDP 细胞增殖 ($\times 200$); D-Transwell 实验检测 A549/DDP 细胞侵袭 ($\times 200$); E-流式细胞术检测 A549/DDP 细胞的凋亡率; a-PTGS2-NC 组; b-PTGS2-KD 组; c-PTGS2-KD+Vector 组; d-PTGS2-KD+oe-BMPER 组; e-PTGS2-KD+BMPER-NC 组; f-PTGS2-KD+BMPER-KD 组; 与 PTGS2-NC 组比较: ** $P < 0.01$; 与 PTGS2-KD+Vector 组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$; 与 PTGS2-KD+BMPER-NC 组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

A-PTGS2 和 BMPER 蛋白表达在细胞中由 Western blotting 检测; B-PTGS2 和 BMPER mRNA 表达在细胞中由 qRT-PCR 检测; C-增殖的 A549/DDP 细胞由 Edu 实验检测 ($\times 200$); D-侵袭的 A549/DDP 细胞由 Transwell 实验检测 ($\times 200$); E-凋亡率 of A549/DDP 细胞由流式细胞术检测; a-PTGS2-NC 组; b-PTGS2-KD 组; c-PTGS2-KD + Vector 组; d-PTGS2-KD + oe-BMPER 组; e-PTGS2-KD + BMPER-NC 组; f-PTGS2-KD + BMPER-KD 组; ** $P < 0.01$ vs PTGS2-NC 组; # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ vs PTGS2-KD + Vector 组; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs PTGS2-KD + BMPER-NC 组。

图 5 PTGS2-BMPER 轴在 SFI 耐药逆转机制中的作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect of PTGS2-BMPER axis in reversal mechanism of drug resistance in SFI ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

无显著影响,但是会上调或下调 BMPER 蛋白和 mRNA 表达水平,提示 BMPER 能够作为 PTGS2 的

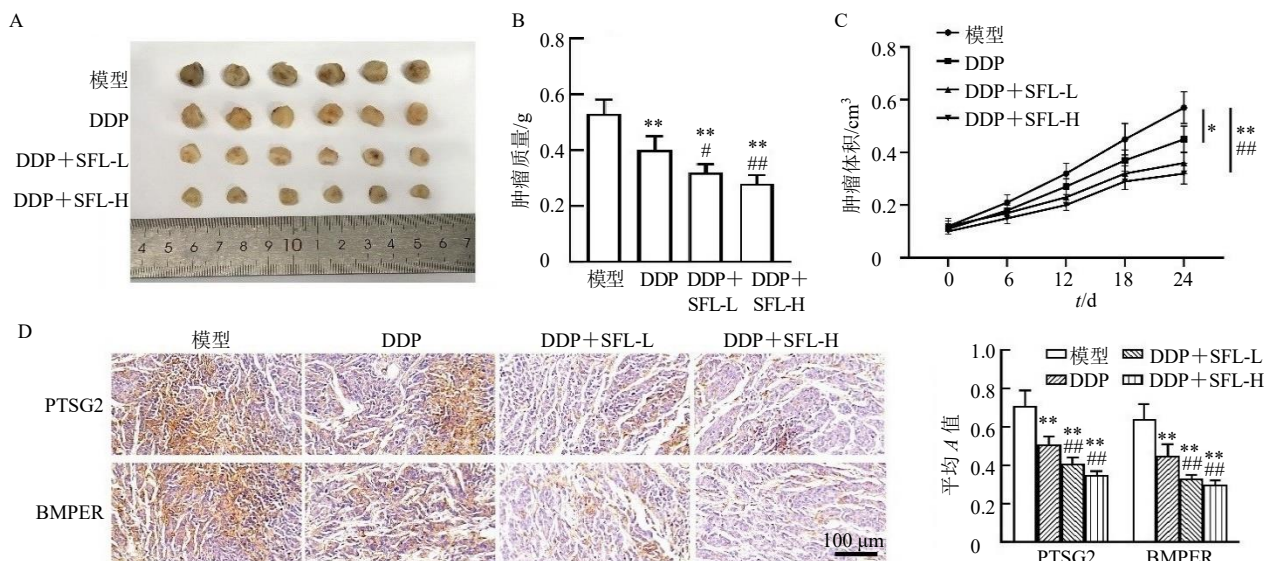
下游。如图 5-C~E 所示,与 PTGS2-NC 组比较,敲减 PTGS2 显著抑制 A549/DDP 细胞增殖和侵袭

且诱导细胞凋亡 ($P < 0.01$), 进一步过表达 BMPER 则促进 A549/DDP 细胞增殖和侵袭且减少细胞凋亡 ($P < 0.05$ 、 0.01), 敲减 BMPER 则抑制 A549/DDP 细胞增殖和侵袭且促进凋亡 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.6 SFI 联合 DDP 治疗抑制异种移植肿瘤的生长

注射 A549/DDP 细胞建立异种移植裸鼠模型, 并给予 DDP 和 SFI 治疗, 如图 6-A~C 所示, 与模型组比较, DDP 干预后显著抑制肿瘤生长 ($P <$

0.05 、 0.01); 相较于 DDP 组, DDP 联合 SFI 治疗进一步抑制肿瘤质量与体积 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且呈剂量相关性。采用免疫组化法检测移植瘤组织中 PTGS2 和 BMPER 的阳性表达情况, 如图 6-D 所示, 与模型组比较, DDP 显著抑制 PTGS2 和 BMPER 的阳性表达 ($P < 0.01$); 与 DDP 组比较, DDP 联合 SFI 治疗进一步抑制 PTGS2 和 BMPER 的阳性表达 ($P < 0.01$)。



A-肿瘤外观; B-肿瘤质量; C-肿瘤体积; D-免疫组化检测肿瘤组织 PTGS2 和 BMPER 的表达 ($\times 200$); SFI-L-SFI 低剂量组; SFI-H-SFI 高剂量组; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 DDP 组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

A-tumor appearance; B-tumor weight; C-tumor volume; D-PTGS2 and BMPER expressions in tumor tissue detected by immunohistochemistry ($\times 200$); SFI-L-SFI low-dose group; SFI-H-SFI high-dose group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs DDP group.

图 6 SFI 联合 DDP 治疗抑制异种移植肿瘤的生长 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 6 SFI combined with DDP treatment inhibits growth of xenograft tumors ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

以 DDP 为基础的化疗方案一直是治疗晚期非小细胞肺癌的标准疗法, 但其临床疗效的实现往往受到多重或继发性耐药性的显著限制^[14]。耐药性的生成根植于多维度的肿瘤耐药分子机制, 其核心包括但不限于细胞内药物积累水平的降低、细胞凋亡途径的受阻、DNA 损伤修复能力的异常提升、肿瘤微环境的变化以及细胞骨架结构的变异^[15-16]。本研究发现, 单独应用 DDP 能够显著抑制 A549/DDP 细胞的增殖和侵袭能力, 并促进细胞凋亡。当 SFI 与 DDP 协同应用时, 观察到了对 A549/DDP 细胞更为明显的抑制效应, 这揭示了 SFI 可能通过提升细胞对 DDP 的敏感性来增强化疗效果, 为临床实践中整合 SFI 与化疗药物应用提供了坚实的理论基础。

为揭示 SFI 的潜在作用机制, 本研究实施了网络药理学分析策略。借助 TCMSP 数据库, 筛选出了 SFI 及其潜在作用靶点, 进而构建了一个全面的“药物-成分-靶点-疾病”交互网络模型。PPI 分析识别 PTGS2 作为 SFI 在肺腺癌病理生理过程中关键作用的核心靶点。PTGS2 作为一类核心的炎症介质及肿瘤促生因子, 在多种肿瘤的发生与进展过程中扮演着至关重要的角色, 此外, 已有文献揭示, PTGS2 通过产生前列腺素 E_2 (prostaglandin E_2 , PGE_2) 促进肺癌免疫逃逸和耐药性, 因此, 靶向 PTGS2/ PGE_2 通路可增强免疫治疗效果^[7,17-18]。

本研究结果显示, SFI 显著降低了 A549/DDP 细胞内 PTGS2 的蛋白和 mRNA 表达水平。当 SFI 与 DDP 联合应用时, 能够进一步下调 PTGS2 的表

达水平。过表达 PTGS2 能够显著诱导 A549/DDP 细胞的增殖和侵袭能力，抑制细胞凋亡。而敲减 PTGS2 则产生相反的效果，表明 PTGS2 在肺腺癌耐药性的形成中确实发挥着重要作用。此外，本研究通过生物信息学分析发现 BMPER 和 PTGS2 高度共表达，提示二者可能在转录水平存在一定的关联。以往有研究发现 BMPER 在乳腺癌中高度表达并影响侵袭性细胞行为^[19]。本研究结果显示，SFI 联合 DDP 干预能够显著降低 A549/DDP 细胞中 BMPER 的表达，而过表达 PTGS2 则显著上调 BMPER 的表达。沉默 PTGS2、过表达或敲减 BMPER 的实验进一步验证了 BMPER 在促进肺腺癌细胞耐药性方面的作用，并揭示了 PTGS2-BMPER 轴在 SFI 耐药逆转机制中的重要作用（图 7）。在体内实验中，建立了 A549/DDP 异种移植裸鼠模型，并观察了 SFI 联合 DDP 治疗对肿瘤生长的影响。结果显示，相较于 DDP 单独治疗，DDP 联合 SFI 治疗能够显著抑制移植瘤的生长，这进一步证实了 SFI 在改善肺腺癌细胞 DDP 耐药性方面的有效性。

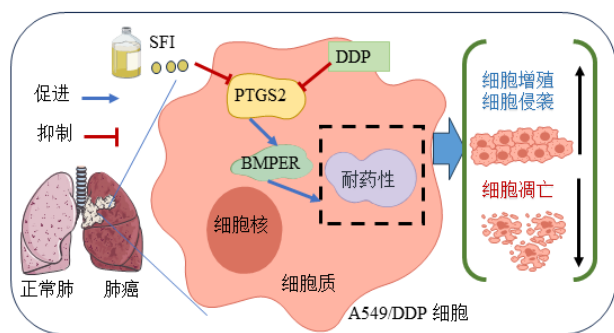


图 7 SFI 通过 PTGS2-BMPER 轴改善 A549 细胞耐药性的分子机制

Fig. 7 Molecular mechanism of SFI on improving drug resistance in A549 cells through PTGS2-BMPER axis

综上，本研究揭示了 SFI 通过 PTGS2-BMPER 轴改善 A549 细胞耐药的分子机制。SFI 能够显著增强 DDP 对 A549/DDP 细胞的抑制作用，并降低耐药相关蛋白的表达。PTGS2 作为 SFI 的关键作用靶点，在耐药逆转机制中发挥着重要作用，而 BMPER 水平受 PTGS2 的调控，也参与了细胞的增殖与侵袭过程。本研究为 SFI 在耐药肺腺癌治疗中的应用提供了理论基础和实验依据，有望为耐药肺腺癌患者提供新的治疗策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘思健, 瞿理, 张玲, 等. m⁶A RNA 修饰在非小细胞肺癌治疗耐药中作用及机制的研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2024, 32(8): 1531-1537.
- [2] Kryczka J, Kryczka J, Czarnecka-Chrebelska K H, et al. Molecular mechanisms of chemoresistance induced by cisplatin in NSCLC cancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 8885.
- [3] 鲍卓, 何映月. 参芪扶正注射液联合化疗对老年晚期非小细胞肺癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群和肿瘤标志物的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(10): 2359-2361.
- [4] 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.
- [5] 陆芳芳, 郝传铮, 沈晓笑. 参芪扶正注射液联合信迪利单抗对中晚期胃癌患者的临床疗效 [J]. 中成药, 2025, 47(3): 1049-1052.
- [6] Xu J, Li X, Dong Q, et al. Shenqi Fuzheng Injection combined with chemotherapy for gastric cancer: An overview of systematic reviews and meta-analyses [J]. *Integr Cancer Ther*, 2023, 22: 15347354231210811.
- [7] Boumelha J, de Castro A, Bah N, et al. CRISPR-Cas9 screening identifies KRAS-induced COX2 as a driver of immunotherapy resistance in lung cancer [J]. *Cancer Res*, 2024, 84(14): 2231-2246.
- [8] Shan L N, Tang X F, Liu Y, et al. Targeting BMPER as a therapeutic strategy for pulmonary arterial hypertension [J]. *Cell Signal*, 2025, 133: 111880.
- [9] Lin Y X, Sun N, Liu D Y, et al. COX-2/PTGS2-targeted herbal-derived oligonucleotide drug HQi-sRNA-2 was effective in spontaneous mouse lung cancer model [J]. *IUBMB Life*, 2024, 76(11): 937-950.
- [10] Huang W Z, Xu X, Liu M Y, et al. Downregulation of Hsa_circ_0000735 inhibits the proliferation, migration, invasion, and glycolysis in non-small-cell lung cancer by targeting miR-940/BMPER axis [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 8427-8439.
- [11] Sun Y, Chen Y S, Xu M, et al. Shenmai Injection suppresses 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.
- [12] 刘兵, 文晓晨, 冯秀芝, 等. 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 [J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(9): 169-173.
- [13] 刘兵, 刘文俊, 孙冶, 等. 参芪扶正注射液对肺腺癌 A549/DDP 细胞荷瘤裸鼠移植瘤 KRT19/ β -catenin 信号通路的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(11): 140-144.
- [14] 唐夏莉, 陈君, 焦德敏, 等. miRNA-126 通过抑制自噬逆转肺癌 A549/DDP 细胞顺铂耐药的作用研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2024, 40(8): 1378-1383.
- [15] Wang J, Liu Q Q, Zhao Y X, *et al.* Tumor cells transmit drug resistance via cisplatin-induced extracellular vesicles [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(15): 12347.
- [16] 刘泽铭, 孙小强. 细胞微环境介导肿瘤耐药性的动力学建模研究进展 [J]. 中山大学学报: 自然科学版中英文, 2024, 63(6): 236-253.
- [17] Yen H, Yen H, Drucker A M, *et al.* COX-2 inhibitors show no preventive effect in the development of skin cancer [J]. *J Dtsch Dermatol Ges*, 2022, 20(2): 157-166.
- [18] Rodrigues P, Bangali H, Hammoud A, *et al.* COX 2-inhibitors; a thorough and updated survey into combinational therapies in cancers [J]. *Med Oncol*, 2024, 41(1): 41.
- [19] Coutant A, Cockenpot V, Muller L, *et al.* Spatial transcriptomics reveal pitfalls and opportunities for the detection of rare high-plasticity breast cancer subtypes [J]. *Lab Invest*, 2023, 103(12): 100258.

[责任编辑 李亚楠]