

引用本文:弓翠屏,王英.洛伐他汀调控转化生长因子- β 诱导的卵巢癌细胞增殖、侵袭和迁移的机制研究[J].安徽医药,2023,27(1):69-73.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.01.015.

◇ 药学研究 ◇



洛伐他汀调控转化生长因子- β 诱导的卵巢癌细胞增殖、侵袭和迁移的机制研究

弓翠屏,王英

作者单位:山东省立第三医院产科,山东 济南250000

摘要: **目的** 研究洛伐他汀对卵巢癌SKOV3细胞迁移、侵袭的影响及作用机制。**方法** 该研究于2019年8月至2020年5月进行,体外培养SKOV3细胞。细胞计数(CCK-8)法检测(0、5、10、20、40、60 $\mu\text{mol/L}$)洛伐他汀对转化生长因子- β (TGF- β)诱导的SKOV3细胞增殖的影响;细胞划痕、Transwell实验、蛋白质印迹法(Western blotting)检测对照组、TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$)组、洛伐他汀(10 $\mu\text{mol/L}$)组、洛伐他汀+TGF- β 组SKOV3细胞的迁移、侵袭、上皮细胞间充质化(EMT)和p38丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)信号通路蛋白水平。**结果** 与0 $\mu\text{mol/L}$ 组(0.885 $\pm$ 0.066、1.365 $\pm$ 0.114、1.669 $\pm$ 0.123)相比,5(0.746 $\pm$ 0.059、1.365 $\pm$ 0.114、1.669 $\pm$ 0.123)、10(0.625 $\pm$ 0.051、1.015 $\pm$ 0.062、1.284 $\pm$ 0.086)、20(0.518 $\pm$ 0.044、0.856 $\pm$ 0.067、1.101 $\pm$ 0.081)、40(0.402 $\pm$ 0.033、0.703 $\pm$ 0.062、0.917 $\pm$ 0.072)、60 $\mu\text{mol/L}$ (0.276 $\pm$ 0.022、0.536 $\pm$ 0.043、0.756 $\pm$ 0.071)洛伐他汀呈浓度依赖性抑制TGF- β 诱导的SKOV3细胞24 h、48 h和72 h增殖($P<0.05$);与TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$)组相比,洛伐他汀逆转TGF- β 诱导的SKOV3细胞迁移(212.341 $\pm$ 20.523比357.962 $\pm$ 32.632)、侵袭(114.362 $\pm$ 10.963比179.635 $\pm$ 15.432),抑制EMT,减少磷酸化p38(p-p38)蛋白水平(1.256 $\pm$ 0.116比1.897 $\pm$ 0.145)($P<0.05$)。**结论** 洛伐他汀可能通过调控p38MAPK信号通路抑制TGF- β 诱导的SKOV3细胞迁移、侵袭、EMT。

关键词: 卵巢肿瘤; 洛伐他汀; 增殖; 侵袭; 迁移; p38丝裂原活化蛋白激酶类; 转化生长因子 β

Lovastatin regulates TGF- β -induced proliferation, invasion and migration of ovarian cancer cells

GONG Cuiping, WANG Ying

Author Affiliation: Obstetrics Department, Shandong Provincial Third Hospital, Jinan, Shandong 250000, China

Abstract: **Objective** To study the effects and mechanism of lovastatin on migration and invasion of ovarian cancer cells SKOV3. **Methods** In this study, SKOV3 cells were cultured in vitro from August 2019 to May 2020. The effect of lovastatin of 0, 5, 10, 20, 40, 60 $\mu\text{mol/L}$ on the proliferation of transforming growth factor- β (TGF- β)-induced SKOV3 cells were detected by cell counting kit-8 (CCK-8). The migration and invasion of SKOV3 cells, epithelial-mesenchymal transition (EMT) and the protein level of p38 mitogen-activated protein kinases (p38MAPK) signaling pathway in the control group, TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$) group, lovastatin (10 $\mu\text{mol/L}$) group and lovastatin+TGF- β group were detected by cell scratch test, Transwell and Western blotting assay. **Results** Compared with 0 $\mu\text{mol/L}$ (0.885 $\pm$ 0.066, 1.365 $\pm$ 0.114, 1.669 $\pm$ 0.123) group, lovastatin of 5 (0.746 $\pm$ 0.059, 1.365 $\pm$ 0.114, 1.669 $\pm$ 0.123), 10 (0.625 $\pm$ 0.051, 1.015 $\pm$ 0.062, 1.284 $\pm$ 0.086), 20 (0.518 $\pm$ 0.044, 0.856 $\pm$ 0.067, 1.101 $\pm$ 0.081), 40 (0.402 $\pm$ 0.033, 0.703 $\pm$ 0.062, 0.917 $\pm$ 0.072), 60 $\mu\text{mol/L}$ (0.276 $\pm$ 0.022, 0.536 $\pm$ 0.043, 0.756 $\pm$ 0.071) groups inhibited the proliferation of SKOV3 cells induced by TGF- β at 24 h, 48 h and 72 h in a concentration-dependent manner ($P<0.05$). Compared with the TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$) group, lovastatin reversed the migration (212.341 $\pm$ 20.523 vs. 357.962 $\pm$ 32.632) and invasion (114.362 $\pm$ 10.963 vs. 179.635 $\pm$ 15.432) of SKOV3 cells induced by TGF- β , inhibited EMT and decreased the phosphorylated p38 (p-p38) protein level (1.256 $\pm$ 0.116 vs. 1.897 $\pm$ 0.145) ($P<0.05$). **Conclusion** Lovastatin may inhibit the migration, invasion and EMT of TGF- β -induced SKOV3 cells by regulating p38MAPK signaling pathway.

Key words: Ovarian neoplasms; Lovastatin; Proliferation; Invasion; Migration; p38 mitogen-activated protein kinases (p38MAPK); Transforming growth factor beta

卵巢癌是一种常见女性生殖系统恶性肿瘤。研究表明,由于缺少特异性症状和临床早期诊断方法,导致大多数卵巢癌病人确诊时已近晚期或发生转移^[1-2]。对于已转移的卵巢癌病人,不能采用手术治疗,因此探究新型的化疗药物成为临床的研究热

点。转化生长因子- β (TGF- β)是TGF家族的重要成员,在细胞生长、分化中发挥重要的作用^[3-4]。研究发现,TGF- β 对细胞转移中上皮细胞间充质化(EMT)过程具有关键调控作用^[5]。近年来研究发现,他汀类药物如辛伐他汀、洛伐他汀不仅具有降

血脂的作用,还可抑制肿瘤细胞的生长^[6-7]。据报道,辛伐他汀可阻碍TGF- β 诱导的卵巢癌细胞恶性生物学特性及EMT过程^[8]。因此本研究于2019年8月至2020年5月,以卵巢癌SKOV3细胞为研究对象,探究洛伐他汀对TGF- β 诱导的SKOV3细胞增殖、侵袭、迁移的影响以及作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 人卵巢癌SKOV3细胞购自美国生物标准品收藏中心公司,胎牛血清、RPMI-1640购自美国Gibco公司,细胞计数试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8)购自日本同仁化学研究所,Matrigel胶购自美国BD公司,Transwell小室购自美国Corning公司,兔抗神经钙黏素(N-cadherin)抗体(1:300)、鼠抗波形蛋白(Vimentin)抗体(1:200)、兔抗上皮钙黏素(E-cadherin)抗体(1:100)、兔抗p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinases, p38MAPK)抗体(1:1 000)购自英国Abcam公司,鼠抗Phosphorylation p38 MAPK(p-p38)抗体(1:2 000)购自美国Santa Cruz公司。电泳转膜仪购自美国BIO-RAD公司,酶标仪购自美国Sigma公司。

1.2 SKOV3细胞的培养 SKOV3细胞在RPMI-1640培养基中培养,加入10%灭活胎牛血清,5%二氧化碳、37℃培养箱中,每1~2天换液,细胞密度达到80%,胰酶消化传代。

1.3 CCK-8实验检测SKOV3细胞增殖 洛伐他汀与二甲基亚砜混合,浓度调整为0、5、10、20、40、60 $\mu\text{mol/L}$;TGF- β 溶于去离子水,浓度为10 $\mu\text{g/L}$;采用不同浓度(0、5、10、20、40、60 $\mu\text{mol/L}$)洛伐他汀培养SKOV3细胞;以每孔 1×10^4 个细胞接种至96孔板,37℃分别培养24 h、48 h、72 h,每孔加入10 μL CCK-8,继续培养1 h,酶标仪检测450 nm下SKOV3细胞吸光值,吸光值越大,表示SKOV3细胞增殖活性越强。

1.4 划痕实验检测SKOV3细胞迁移率 将SKOV3细胞分为对照组、TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$)组、洛伐他汀(10 $\mu\text{mol/L}$)组、洛伐他汀+TGF- β 组;对照组细胞常规培养,TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$)组、洛伐他汀(10 $\mu\text{mol/L}$)组细胞中分别加入10 $\mu\text{g/L}$ TGF- β 和10 $\mu\text{mol/L}$ 洛伐他汀处理,洛伐他汀+TGF- β 组细胞中同时加入10 $\mu\text{g/L}$ TGF- β 和10 $\mu\text{mol/L}$ 洛伐他汀处理;收集 3×10^5 个SKOV3细胞,接种至6孔板,37℃培养至细胞密度约为80%~90%,采用无菌枪头在培养板中划线,通过显微镜观察0 h、24 h划痕面积,计算迁移率。迁移率=(0 h划痕面积-24 h划痕面积)/0 h划痕面积 $\times 100\%$ 。

1.5 Transwell法检测SKOV3细胞侵袭、迁移 将Matrigel胶与无血清培养基置于冰上按1:8混合,取50 μL Matrigel胶稀释液覆盖Transwell上室,37℃孵

育2 h,凝固后备用。收集各组培养24 h的SKOV3细胞,加入200 μL 无血清培养基,吸取含 1×10^5 个SKOV3细胞悬浮液加入Transwell上室中,下室加入500 μL 含10%胎牛血清的培养基,37℃孵育24 h,棉签擦掉残留SKOV3细胞,4%多聚甲醛固定30 min,0.1%结晶紫染色30 min,显微镜($\times 200$)下检测侵袭细胞数;迁移实验过程中Transwell上室无须添加Matrigel胶,其与同侵袭。

1.6 蛋白质印迹法检测蛋白水平 收集各组SKOV3细胞,每孔加入RIPA裂解液,冰上裂解30 min,提取总蛋白;将蛋白样品适量稀释,100℃加热5 min;吸取40 μg 蛋白样品上样,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭1 h, TBST清洗3次,加入一抗(按照说明书进行稀释),4℃过夜, TBST清洗3次,加入二抗,37℃孵育1.5 h,显影、拍照,Quantity One软件测定蛋白灰度,分析蛋白灰度值/GAPDH蛋白灰度值的比值。

1.7 统计学方法 SPSS 22.0统计学软件分析实验结果,计量资料表示为 $\bar{x} \pm s$,多组间比较采用单因素方差分析,组间多重比较使用SNK- q 检验,不同浓度、不同时间作用下细胞增殖活性采用重复测量方差法分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度洛伐他汀对TGF- β 诱导SKOV3细胞增殖的影响 结果见表1,与对照组相比,TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$)组提高SKOV3细胞24 h、48 h和72 h的增殖活性,均差异有统计学意义($P < 0.05$)。与TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$)组相比,随着洛伐他汀浓度的不断增加,5、10、20、40、60 $\mu\text{mol/L}$ TGF- β 诱导的SKOV3细胞24 h、48 h和72 h增殖活性逐渐降低;随着洛伐他汀作用时间的不断增加,TGF- β 诱导的SKOV3细胞增殖活性逐渐升高;差异有统计学意义($P < 0.05$)。其中,10 $\mu\text{mol/L}$ 洛伐他汀在24 h即对TGF- β 诱导的SKOV3细胞增殖具有明显抑制作用。

2.2 洛伐他汀对TGF- β 诱导SKOV3细胞迁移的影响 与对照组相比,TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$)组提高SKOV3细胞迁移率和迁移细胞数,但洛伐他汀(10 $\mu\text{mol/L}$)组降低SKOV3细胞迁移率和迁移细胞数;与TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$)组相比,洛伐他汀降低TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$)诱导的SKOV3细胞迁移率和迁移细胞数。见表2。

2.3 洛伐他汀对TGF- β 诱导SKOV3细胞侵袭的影响 对照组、TGF- β (10 $\mu\text{g/L}$)组、洛伐他汀(10 $\mu\text{mol/L}$)组、洛伐他汀+TGF- β 组的细胞侵袭数分别为 89.658 ± 8.746 、 179.635 ± 15.432 、 32.163 ± 3.054 、 114.362 ± 10.963 ,四组之间比较差异有统计学意义($F = 100.81$, $P < 0.001$)。与对照组相比,TGF- β (10

表1 不同浓度洛伐他汀对转化生长因子-β(TGF-β)诱导SKOV3细胞增殖的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	细胞活性(OD 450 nm)		
		24 h	48 h	72 h
对照组	3	0.224±0.021	0.434±0.041	0.688±0.061
TGF-β(10 μg/L)组	3	0.885±0.066 ^①	1.365±0.114 ^①	1.669±0.123 ^①
TGF-β+洛伐他汀 35μmol/L组	3	0.746±0.059 ^②	1.173±0.135 ^②	1.458±0.126 ^②
TGF-β+洛伐他汀 10 μmol/L组	3	0.625±0.051 ^{②③}	1.015±0.062 ^{②③}	1.284±0.086 ^{②③}
TGF-β+洛伐他汀 20 μmol/L组	3	0.518±0.044 ^{②③④}	0.856±0.067 ^{②③④}	1.101±0.081 ^{②③④}
TGF-β+洛伐他汀 40 μmol/L组	3	0.402±0.033 ^{②③④⑤}	0.703±0.062 ^{②③④⑤}	0.917±0.072 ^{②③④⑤}
TGF-β+洛伐他汀 60 μmol/L组	3	0.276±0.022 ^{②③④⑤⑥}	0.536±0.043 ^{②③④⑤⑥}	0.756±0.071 ^{②③④⑤⑥}
F值		86.95	51.28	47.72
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:①与对照组相比, $P<0.05$ 。②与对照组TGF-β(10 μg/L)组相比, $P<0.05$ 。③与对照组TGF-β+洛伐他汀 5μmol/L组相比, $P<0.05$ 。④与对照组TGF-β+洛伐他汀 10 μmol/L组相比, $P<0.05$ 。⑤与对照组TGF-β+洛伐他汀 20 μmol/L组相比, $P<0.05$ 。⑥与对照组TGF-β+洛伐他汀 40 μmol/L组相比, $P<0.05$ 。

表2 洛伐他汀对TGF-β诱导SKOV3细胞迁移的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	迁移率	迁移细胞数
对照组	3	0.423±0.045	163.895±15.473
TGF-β(10 μg/L)组	3	0.786±0.074 ^①	357.962±32.632 ^①
洛伐他汀(10 μmol/L)组	3	0.258±0.026 ^①	65.241±6.487 ^①
洛伐他汀+TGF-β组	3	0.485±0.051 ^②	212.341±20.523 ^{①②}
F值		54.16	100.86
P值		<0.001	<0.001

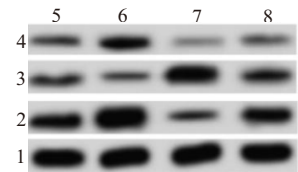
注:TGF-β为转化生长因子-β。

①与对照组相比, $P<0.05$ 。②与TGF-β(10 μg/L)组或洛伐他汀(10 μmol/L)组相比, $P<0.05$ 。

μg/L)组提高SKOV3细胞侵袭数,但洛伐他汀(10 μmol/L)组降低SKOV3细胞侵袭数;与TGF-β(10 μg/L)组相比,洛伐他汀降低TGF-β(10 μg/L)诱导的SKOV3细胞侵袭数。

2.4 洛伐他汀对TGF-β诱导SKOV3细胞EMT的影响 与对照组相比,TGF-β(10 μg/L)组提高SKOV3细胞中N-cadherin、Vimentin蛋白水平,降低E-cadherin蛋白水平,但洛伐他汀(10 μmol/L)组降低SKOV3细胞中N-cadherin、Vimentin蛋白水平,升高E-cadherin蛋白水平;与TGF-β(10 μg/L)组相比,洛伐他汀降低TGF-β(10 μg/L)诱导的SKOV3细胞

中N-cadherin、Vimentin蛋白水平的增加和E-cadherin蛋白水平的降低。见表3,图1。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—神经钙黏素(N-cadherin);3—上皮钙黏素(E-cadherin);4—波形蛋白(Vimentin);5—对照组;6—转化生长因子-β(TGF-β)10 μg/L组;7—洛伐他汀 10 μmol/L组;8—洛伐他汀+TGF-β组。

图1 洛伐他汀对TGF-β诱导SKOV3细胞EMT的影响

2.5 洛伐他汀对TGF-β诱导SKOV3细胞p38MAPK信号通路的影响 各组p38蛋白水平无明显差异;与对照组相比,TGF-β(10 μg/L)组提高SKOV3细胞中p-p38蛋白水平,但洛伐他汀(10 μmol/L)组降低SKOV3细胞中p-p38蛋白水平;与TGF-β(10 μg/L)组相比,洛伐他汀降低TGF-β(10 μg/L)诱导的SKOV3细胞中p-p38蛋白水平的增加。见表4,图2。

3 讨论

卵巢癌严重威胁女性的生命健康,其发病机制是一个多因素参与的过程。临床上主要采用手术

表3 洛伐他汀对TGF-β诱导SKOV3细胞EMT的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	N-cadherin	E-cadherin	Vimentin
对照组	3	1.000±0.078	1.000±0.075	1.000±0.068
TGF-β(10 μg/L)组	3	2.017±0.186 ^①	0.569±0.053 ^①	1.698±0.138 ^①
洛伐他汀(10 μmol/L)组	3	0.341±0.032 ^①	2.317±0.216 ^①	0.215±0.023 ^①
洛伐他汀+TGF-β组	3	1.325±0.112 ^{①②}	1.685±0.154 ^{①②}	0.831±0.079 ^{①②}
F值		107.47	89.99	146.60
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:TGF-β为转化生长因子-β,N-cadherin为神经钙黏素,E-cadherin为上皮钙黏素,Vimentin为波形蛋白。

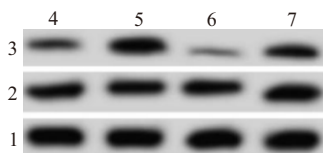
①与对照组相比, $P<0.05$ 。②与TGF-β(10 μg/L)组或洛伐他汀(10 μmol/L)组相比, $P<0.05$ 。

表4 洛伐他汀对TGF- β 诱导SKOV3细胞p38MAPK信号通路的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	p38	p-p38
对照组	3	1.000 $\pm$ 0.076	1.000 $\pm$ 0.074
TGF- β (10 μ g/L)组	3	1.023 $\pm$ 0.095	1.897 $\pm$ 0.145 ^①
洛伐他汀(10 μ mol/L)组	3	1.014 $\pm$ 0.103	0.378 $\pm$ 0.039 ^①
洛伐他汀+TGF- β 组	3	0.997 $\pm$ 0.098	1.256 $\pm$ 0.116 ^{①②}
F值		0.05	114.01
P值		0.983	<0.001

注:TGF- β 为转化生长因子- β , p38为p38丝裂原活化蛋白激酶, p-p38为磷酸化的p38丝裂原活化蛋白激酶。

①与对照组相比, $P < 0.05$ 。②与TGF- β (10 μ g/L)组或洛伐他汀(10 μ mol/L)组相比, $P < 0.05$ 。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—p38丝裂原活化蛋白激酶(p38);3—磷酸化的p38(p-p38);4—对照组;5—转化生长因子- β (TGF- β)10 μ g/L组;6—洛伐他汀10 μ mol/L组;7—洛伐他汀+TGF- β 组。

图2 洛伐他汀对TGF- β 诱导SKOV3细胞p38MAPK信号通路的影响

和放化疗结合,但由于大部分病人确诊时已是晚期,无法采取手术治疗,化疗易产生耐药性,导致病人预后较差^[9-10]。其中肿瘤组织的远端转移以及化疗耐药性是目前制约临床治疗效果的主要原因之一。EMT是肿瘤细胞侵袭、迁移过程中的重要过程,去EMT化已成为肿瘤研究的重点和热点。N-cadherin、Vimentin、E-cadherin是EMT过程中的关键调控因子^[11-12]。E-cadherin是上皮细胞表型的标志物质,是EMT过程的关键限速因子;而N-cadherin、Vimentin是间质细胞表型的标志物质,E-cadherin表达量降低及N-cadherin、Vimentin表达量增加均可促进细胞侵袭、迁移。EMT过程受多种信号因子的调控,TGF- β 是最重要的信号因子^[13-14]。

洛伐他汀是一种常见他汀类药物,可抑制羟甲基戊二酰单酰辅酶A还原酶转变为甲基二羟戊酸,从而调节细胞的重要生物学功能。临床试验结果证实,洛伐他汀通过抑制鼻咽癌细胞凋亡、阻滞细胞周期,增强细胞的化疗敏感性,为临床治疗鼻咽癌提供新的思路^[15];洛伐他汀通过上调或下调细胞增殖、凋亡、周期、EMT相关蛋白的表达量,从而抑制乳腺癌的发生发展^[16];洛伐他汀通过调控环氧合酶-2和过氧化物酶体增殖物活化受体 γ 诱导人肺癌细胞凋亡^[17]。上述研究均表明,洛伐他汀可通过调控细胞的生物学特性抑制肿瘤的病理进展,但其在肿瘤转移过程中的作用及机制尚不完全清楚。

在本研究中,10 μ g/L TGF- β 作用于SKOV3细胞,提高细胞增殖活性,增强其侵袭、迁移能力,与前人的研究结果相似;不同浓度(0、5、10、20、40、60 μ mol/L)洛伐他汀对10 μ g/L TGF- β 作用于SKOV3细胞增殖具有抑制作用,其中10 μ mol/L洛伐他汀在24 h即可明显抑制细胞的增殖,因此后续选取10 μ mol/L洛伐他汀进行研究;10 μ mol/L洛伐他汀对10 μ g/L TGF- β 作用于SKOV3细胞侵袭、迁移具有明显的抑制作用,提高上皮细胞表型标志物E-cadherin蛋白水平,降低间质细胞表型标志物N-cadherin、Vimentin蛋白的表达量,表明洛伐他汀可抑制TGF- β 诱导的卵巢癌细胞增殖、侵袭、迁移以及EMT过程。研究证实,TGF- β 、洛伐他汀均可通过调控p38MAPK信号通路的活性发挥作用^[18-19]。为进一步探究洛伐他汀的作用机制,本实验检测了p38MAPK信号通路关键蛋白因子p38总蛋白以及磷酸化p38蛋白水平,结果发现,洛伐他汀对TGF- β 诱导的卵巢癌细胞中p38总蛋白水平无明显影响,但可降低磷酸化p38蛋白水平,表明洛伐他汀可能通过抑制p38MAPK信号通路阻碍TGF- β 诱导的卵巢癌细胞增殖、侵袭、迁移以及EMT过程。

综上所述,洛伐他汀可逆转TGF- β 诱导的卵巢癌细胞增殖、侵袭、迁移以及EMT过程,可能通过抑制p38MAPK信号通路发挥作用,提示洛伐他汀有可能成为卵巢癌治疗的潜在药物。未来会进一步在多株细胞以及动物模型中进一步探究洛伐他汀的抗肿瘤作用,为肿瘤的临床治疗提供新的实验基础。

参考文献

- [1] STEWART C, RALYEA C, LOCKWOOD S. Ovarian cancer: an integrated review[J]. Semin Oncol Nurs, 2019, 35(2): 151-156.
- [2] MENON U, KARPINSKYJ C, GENTRY-MAHARAJ A. Ovarian cancer prevention and screening[J]. Obstet Gynecol, 2018, 131(5): 909-927.
- [3] SUN Q, YOU W, FENG Z, et al. Maresin 1 inhibits transforming growth factor- β 1-induced proliferation, migration and differentiation in human lung fibroblasts[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(2): 1523-1529.
- [4] HAO Y, BAKER D, DIJKE PTEN. TGF- β -mediated epithelial-mesenchymal transition and cancer metastasis[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(11):2767-2801.
- [5] YEH HW, HSU EC, LEE SS, et al. PSpC1 mediates TGF- β 1 autocrine signalling and Smad2/3 target switching to promote EMT, stemness and metastasis[J]. Nat Cell Biol, 2018, 20(4):479-491.
- [6] 杜克先, 胡敏. 洛伐他汀联合塞来昔布对宫颈鳞癌 Caveolin-1 的表达及下游信号分子的影响及意义分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(8):1188-1190.
- [7] 杨东哲, 段峰, 戴辛鹏. 辛伐他汀和普伐他汀对人舌鳞癌Tca-

- 8113细胞的增殖、凋亡作用影响的初步探究[J]. 医学理论与实践, 2018, 31(12):1717-1718, 1734.
- [8] 何鹏娟, 颜磊, 范明君, 等. 辛伐他汀对 TGF- β 诱导的卵巢癌上皮间质转化的影响[J]. 山东大学学报(医学版), 2018, 56(5): 46-51.
- [9] KLOTZ DM, WIMBERGER P. Overcoming PARP inhibitor resistance in ovarian cancer: what are the most promising strategies? [J]. Arch gynecol Obstet, 2020, 302(5): 1087-1102.
- [10] BOUSSIOS S, KARIHTALA P, MOSCHETTA M, et al. Veliparib in ovarian cancer: a new synthetically lethal therapeutic approach[J]. Invest New Drugs, 2020, 38(1): 181-193.
- [11] LI Y, ZHANG T, QIN S, et al. Effects of UPF1 expression on EMT process by targeting E-cadherin, N-cadherin, vimentin and twist in a hepatocellular carcinoma cell line [J]. Mol Med Rep, 2019, 19(3): 2137-2143.
- [12] LIU L, WU N, WANG Y, et al. TRPM7 promotes the epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer through the calcium-related PI3K / AKT oncogenic signaling [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1):106.
- [13] YU Y, LUO W, YANG ZJ, et al. miR-190 suppresses breast cancer metastasis by regulation of TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1):70.
- [14] 姬欢欢, 董晓雷, 朱峰, 等. C-藻蓝蛋白抑制 TGF- β 1 诱导的宫颈鳞癌 Caski 细胞上皮-间充质转化[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(2):129-134.
- [15] YIKUN P, GUANGCHUN H, DA T, et al. Lovastatin inhibits cancer stem cells and sensitizes to chemo- and photodynamic therapy in nasopharyngeal carcinoma[J]. J Cancer, 2017, 8(9):1655-1664.
- [16] YANG T, YAO H, HE G, et al. Effects of lovastatin on MDA-MB-231 breast cancer cells: an antibody microarray analysis [J]. J Cancer, 2016, 7(2): 192-199.
- [17] WALTHER U, EMMRICH K, RAMER R, et al. Lovastatin lactone elicits human lung cancer cell apoptosis via a COX-2/PPAR γ -dependent pathway[J]. Oncotarget, 2016, 7(9): 10345-10362.
- [18] LIU PC, LU G, DENG Y, et al. Inhibition of NF- κ B pathway and modulation of MAPK signaling pathways in glioblastoma and implications for lovastatin and tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) combination therapy [J/OL]. Plos One, 2017, 12 (1) : e0171157. DOI: 10.1371/journal.pone.0171157.
- [19] 张晓霞, 杨建村, 魏任雄, 等. TGF- β 1 通过 p38MAPK 信号通路调节大鼠睾丸支持细胞闭锁蛋白表达的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(16):1921-1924.

(收稿日期:2020-10-10,修回日期:2020-12-07)

引用本文:简宇,范婷,代凌云,等.基于NOD样受体热蛋白结构域3/胱天蛋白酶-1通路探讨鱼腥草注射液缓解脂多糖诱导的小鼠急性肺炎肺损伤的作用机制[J].安徽医药,2023,27(1):73-78.DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2023.01.016.

◇ 药学研究 ◇



基于NOD样受体热蛋白结构域3/胱天蛋白酶-1通路探讨鱼腥草注射液缓解脂多糖诱导的小鼠急性肺炎肺损伤的作用机制

简宇,范婷,代凌云,赵春虎

作者单位:荆州市中心医院急诊科,湖北 荆州 434000

摘要: **目的** 探究鱼腥草注射液(HHI)对急性肺炎小鼠的保护作用及对NOD样受体热蛋白结构域3(NLRP3)/胱天蛋白酶-1(caspase-1)通路的调控作用。**方法** 2019年7月至2020年6月,将购自广东省医学实验动物中心的90只BALB/c雄性小鼠分为正常对照组、模型组、HHI低(10 mL/kg)及高(30 mL/kg)剂量组、NLRP3激动剂(DDC)组(300 mg/kg)、HHI+DDC组(30 mL/kg+300 mg/kg),每组15只。除正常对照组外,其余各组均通过雾化吸入脂多糖(LPS)2.5 g/L建立急性肺炎模型。末次给药后检测支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF- α)水平、中性粒细胞数目;取右肺,检测右肺湿重/干重(W/D);左肺组织病理损伤情况,肺组织凋亡相关斑点样蛋白(ASC)mRNA及蛋白、NLRP3 mRNA及蛋白、TNF- α 、IL-6、caspase-1蛋白表达水平。**结果** 与正常对照组比较,模型组小鼠出现肺泡破坏及炎性细胞浸润等病理损伤现象,W/D、IL-6[(1 692.06 $\pm$ 95.26) μ g/L比(569.91 $\pm$ 50.89) μ g/L]、TNF- α [(1 846.24 $\pm$ 99.26) μ g/L比(506.99 $\pm$ 55.48) μ g/L]水平及中性粒细胞数目[(66.24 $\pm$ 2.56) $\times 10^6$ 个/毫升比(5.09 $\pm$ 1.98) $\times 10^6$ 个/毫升]、肺组织NLRP3 mRNA及蛋白(1.01 $\pm$ 0.13比0.22 $\pm$ 0.12)、ASC mRNA及蛋白(1.03 $\pm$ 0.13比0.29 $\pm$ 0.11)、caspase-1(1.06 $\pm$ 0.14比0.25 $\pm$ 0.12)、TNF- α 、IL-6蛋白表达升高($P<0.05$);与模型组相比,HHI低、高剂量组肺泡破坏及炎性细胞浸润等现象缓解,W/D、小鼠BALF中炎性因子IL-6[(1 069.13 $\pm$ 75.12) μ g/L、(889.02 $\pm$ 65.13) μ g/L比(1 692.06 $\pm$ 95.26) μ g/L]、TNF- α [(1 225.33 $\pm$ 84.02) μ g/L、(806.63 $\pm$ 69.12) μ g/L比(1 846.24 $\pm$ 99.26) μ g/L]含量及中性粒细胞数目[(45.33 $\pm$ 2.22) $\times 10^6$ 个/毫升、(22.63 $\pm$ 2.02) $\times 10^6$ 个/毫升比(66.24 $\pm$ 2.56) $\times 10^6$ 个/毫升]、肺组织中NLRP3 mRNA及蛋白(0.83 $\pm$ 0.11、