

· 论 著 ·

# 丹参酮ⅡA 对胃癌细胞的抗癌作用及机制探讨\*

王 佩<sup>1</sup>, 杨振宇<sup>2</sup>, 袁利娟<sup>2</sup>, 唐海利<sup>2△</sup>

空军军医大学唐都医院:1. 门诊部;2. 普通外科, 陕西西安 710038

**摘要:** 目的 探讨丹参酮ⅡA(TⅡA)对胃癌细胞的抗癌作用及其机制。方法 以胃癌细胞 AGS、BGC-823 为研究对象, 基于 MTT 比色实验, 计算 TⅡA 在胃癌细胞 AGS、BGC-823 中的半抑制浓度(IC50)。选择合适浓度的 TⅡA, 采用流式细胞术分析 TⅡA 对细胞凋亡和死亡的影响。将胃癌细胞 AGS、BGC-823 分为对照组、TⅡA 组和 TⅡA+铁死亡抑制剂 Fer-1 组(TⅡA+Fer-1 组), 分别检测并比较每组细胞内谷胱甘肽(GSH)、半胱氨酸(Cys)、活性氧(ROS)及脂质过氧化水平。通过中药系统药理学和 String 数据库筛选并验证 TⅡA 潜在的作用靶点。采用蛋白质印迹法检测各组谷氨酸/胱氨酸转运蛋白(xCT)水平, 采用实时荧光定量 PCR 检测 TP53、溶质载体 7 家族 11 成员(SLC7A11)、前列腺素过氧化物内合酶 2(PTGS2)的 mRNA 水平。结果 TⅡA 对胃癌细胞 AGS、BGC-823 具有良好的抗癌作用, IC50 分别为 2.880 μg/mL 和 2.350 μg/mL。TⅡA 能抑制胃癌细胞 AGS、BGC-823 的生长, 促进其凋亡和死亡。TⅡA 能降低胃癌细胞 AGS、BGC-823 GSH、Cys 水平( $P < 0.05$ ), 升高 ROS、脂质过氧化水平( $P < 0.05$ ), 最终引起细胞铁死亡。通过数据库分析发现, TP53 是 TⅡA 重要的作用靶点。TⅡA 能促进 TP53 的表达, 抑制 xCT 的表达, Fer-1 能削弱 TⅡA 对 TP53、xCT 表达的影响。加入 TP53 抑制剂后, TⅡA 对 SLC7A11、PTGS2、TP53 的作用减弱( $P < 0.05$ )。结论 TⅡA 对胃癌细胞 AGS、BGC-823 具有良好的抗癌作用, 可以通过 TP53/xCT 途径促进胃癌细胞铁死亡。

**关键词:** 丹参酮ⅡA; 铁死亡; TP53; 谷氨酸/胱氨酸转运蛋白

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.12.001

**中图法分类号:** R735.2

**文章编号:** 1673-4130(2024)12-1409-07

**文献标志码:** A

## Study on the anticancer effect and mechanism of tanshinone ⅡA on gastric cancer cells\*

WANG Pei<sup>1</sup>, YANG Zhenyu<sup>2</sup>, YUAN Lijuan<sup>2</sup>, TANG Haili<sup>2△</sup>

1. Department of Outpatient; 2. Department of General Surgery, Tangdu Hospital,  
Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi 710038, China

**Abstract: Objective** To investigate the anticancer effect of tanshinone ⅡA (TⅡA) on gastric cancer cells and its mechanism. **Methods** Gastric cancer cells AGS and BGC-823 were used in this study, the semi inhibitory concentration (IC50) of TⅡA in gastric cancer cells AGS and BGC-823 were calculated based on MTT colorimetric assay. The appropriate concentration of TⅡA was selected. The effects of TⅡA on cell apoptosis and death were analyzed by flow cytometry. Gastric cancer cells AGS and BGC-823 were divided into control group, TⅡA group and TⅡA+ferroptosis inhibitor Fer-1 group (TⅡA+Fer-1 group). The levels of glutathione (GSH), cysteine (Cys), reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation in each group were detected and compared. The potential targets of TⅡA were screened and verified by traditional Chinese medicine system pharmacology and String database. The levels of glutamate/cystine transporter (xCT) in each group were detected by Western blot, and the mRNA levels of TP53, solute carrier 7 family 11 members (SLC7A11), and prostaglandin peroxide endosynthase 2 (PTGS2) were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. **Results** TⅡA had a good anticancer effect on gastric cancer cells AGS and BGC-823 with IC50 of 2.880 μg/mL and 2.350 μg/mL, respectively. TⅡA could inhibit the growth and promote apoptosis and death of gastric cancer cells AGS and BGC-823. TⅡA treatment reduced GSH and Cys levels ( $P < 0.05$ ), increased ROS and lipid peroxidation levels ( $P < 0.05$ ), and finally induced ferroptosis in AGS and BGC-823 cells. Database analysis showed that TP53 was an important target of TⅡA. TⅡA promoted the expression of

\* 基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81502424)。

作者简介: 王佩, 女, 主管护师, 主要从事消化道肿瘤相关研究。 △ 通信作者, E-mail: 634012799@qq.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240614.1428.002.html>(2024-06-17)

TP53 and inhibited the expression of xCT. Fer-1 attenuated the effects of TⅡA on the expression of TP53 and xCT. After adding TP53 inhibitor, the effects of TⅡA on SLC7A11, PTGS2, and TP53 were weakened ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** TⅡA has a good anticancer effect on gastric cancer cells AGS and BGC-823, and it could promote ferroptosis of gastric cancer cells through TP53/xCT pathway.

**Key words:** tanshinone ⅡA; iron death; TP53; glutamate/cystine transporter

胃癌目前是社会第五大恶性肿瘤,在癌症相关死亡率中排名第3<sup>[1]</sup>。全世界每年至少有100万人被诊断为胃癌<sup>[2-3]</sup>。发展中国家有超过70%的胃癌患者<sup>[4]</sup>。据估计,胃癌患者的5年生存率低于20%<sup>[5]</sup>,晚期胃癌患者的中位生存期更是小于12个月<sup>[6-7]</sup>。因此,寻找新的治疗策略和药物成为非常迫切的任务。

铁死亡是新发现的一种细胞死亡方式,其特征是细胞脂质过氧化水平升高<sup>[8]</sup>。在胃癌中,铁死亡同样具有非常重要的作用<sup>[9-10]</sup>。丹参酮ⅡA(TⅡA)是中药丹参的重要活性成分,主要用于治疗心血管疾病<sup>[11]</sup>。目前已经有研究表明,TⅡA可以通过多种途径抑制胃癌细胞的生长<sup>[12-15]</sup>,但是其作用机制是否与铁死亡相关,仍未完全阐明。因此,本研究旨在深入了解TⅡA在胃癌细胞中的作用机制,为开发新的胃癌治疗策略提供理论支持和实验依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料来源** 胃癌细胞 AGS 和 BGC-823 购自武汉赛诺普生命科技有限公司

**1.2 仪器与试剂** 全光谱酶标仪(BioRad),电泳仪(BioRad),凝胶成像分析仪(BioRad)。TⅡA 及铁死亡抑制剂 Fer-1(MCE),TP53 抑制剂(Selleck),谷胱甘肽(GSH)检测试剂盒(Solarbio),半胱氨酸(Cys)检测试剂盒(Elabscience),细胞 Annexin V-FITC 检测试剂盒和活性氧(ROS)检测试剂盒(碧云天),脂质过氧化检测试剂盒(Abcam),TP53 酶联免疫吸附测定试剂盒(Elabscience),谷氨酸/胱氨酸转运蛋白(xCT)(Abcam),β-actin 抗体(Bioss),BCA 蛋白定量试剂盒(碧云天),SDS-PAGE 凝胶试剂盒(Coolaber),两步法逆转录试剂盒(Vazyme),SYBR 实时荧光定量 PCR(qPCR)试剂盒(Vazyme)。

## 1.3 方法

**1.3.1 细胞及培养条件** 用终浓度为1%青霉素(100 U/mL)和链霉素(100 U/mL)的DMEM+10%胎牛血清的培养液培养细胞。细胞培养条件为37℃、5%CO<sub>2</sub>。传代按照1:2比例进行,取对数期细胞用于实验研究。

**1.3.2 药物配制及处理** TⅡA、Fer-1 和 TP53 抑制剂均用二甲基亚砜(DMSO)溶解,分别配成浓度为10 mg/mL、10 mmol/L 和 10 mmol/L 的储存液。用 DMEM 培养液分别稀释 TⅡA、Fer-1 和 TP53 抑制剂储存液至实验使用浓度。

**1.3.3 细胞活力检测** 对照组和处理组细胞分别接

种于96孔板中,于37℃,5%CO<sub>2</sub>条件下过夜培养。处理组按照倍比稀释法加入不同浓度的TⅡA,最高浓度为50 μg/mL,最低浓度为0.195~313 μg/mL。培养48 h后,加入20 μL浓度为5 mg/mL的MTT溶液继续培养4 h。弃培养液,加入150 μL DMSO溶液,室温摇床10 min。用酶标仪在波长490 nm处测吸光度值。用Graphpad Prism8.0软件计算半抑制浓度(IC50)。

**1.3.4 TⅡA 对细胞存活率的检测** 对照组和处理组(2 μg/mL 和 3 μg/mL)的细胞接种于96孔板中,分别于24、48、72、96 h,用MTT比色法检测细胞的吸光度值,吸光度值与细胞活性成正比,筛选出最适作用浓度。

**1.3.5 细胞凋亡和死亡水平检测** 流式细胞术用于检测细胞凋亡和死亡情况。根据细胞 Annexin V-FITC 检测试剂盒说明书进行操作,收集对照组和处理组细胞,用PBS缓冲液制成单细胞悬液。用Annexin V-FITC 和 PI 溶液在室温下孵育 15 min,用流式细胞仪分析结果。Q2 和 Q3 分别代表死亡细胞和凋亡细胞。

**1.3.6 细胞内 GSH、Cys 水平检测** 对照组和处理组细胞接种于6孔板中,过夜培养后,处理组加入终浓度为2 μg/mL的TⅡA溶液,处理48 h。根据检测试剂盒说明书进行操作,分别在波长412 nm 和 600 nm 处检测吸光度值。根据标准曲线,计算GSH、Cys水平。

**1.3.7 细胞内 ROS 水平检测** 用ROS检测试剂盒检测细胞内ROS水平。对照组和处理组细胞接种于96孔板中,过夜培养后,处理组加入TⅡA处理细胞48 h。弃培养液,PBS清洗细胞3次,然后加入终浓度为10 μg/mL的DHCA,避光孵育20 min,弃上清液,PBS清洗3次,在激发波长488 nm,发射波长530 nm处,用荧光酶标仪检测细胞的荧光强度。

**1.3.8 细胞脂质过氧化水平检测** 细胞经TⅡA处理48 h后,用MDA试剂盒对细胞脂质过氧化水平进行检测。按照试剂盒提供的说明书进行操作,样品中的MDA与硫代巴比妥酸(TBA)反应生成MDA-TBA化合物。检测MDA-TBA化合物在波长532 nm处的吸光度值。

**1.3.9 探究 TⅡA 潜在作用靶点及通路** 中药系统药理学(TCMSP)<sup>[16]</sup>数据库用来筛选 TⅡA 的作用靶点,用String数据库(<https://cn.string-db.org/>)建

立靶点的蛋白互助网络,根据蛋白节点数筛选出 TⅡA 作用最大的靶点分子。

**1.3.10 细胞内 TP53 水平检测** 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒用于定量检测细胞内 TP53 水平。细胞经 TⅡA 处理 48 h 后,根据 ELISA 试剂盒说明书进行操作,在波长 405 nm 处检测吸光度值,根据标准曲线计算样品中 TP53 水平。

**1.3.11 RNA 提取及 qPCR** Trizol 裂解细胞,提取细胞 RNA,分光光度计检测浓度和纯度后,按照逆转录试剂盒操作规程进行逆转录反应。用 qPCR 试剂盒检测细胞内 TP53、溶质载体 7 家族 11 成员(SLC7A11)、前列腺素过氧化物内合酶 2(PTGS2)的 mRNA 水平。反应程序:95 °C 15 s,60 °C 60 s,95 °C 15 s,40 个循环。每组设置 3 个复孔,运用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  的方法分析结果。实验所需引物见表 1。

表 1 qPCR 引物信息

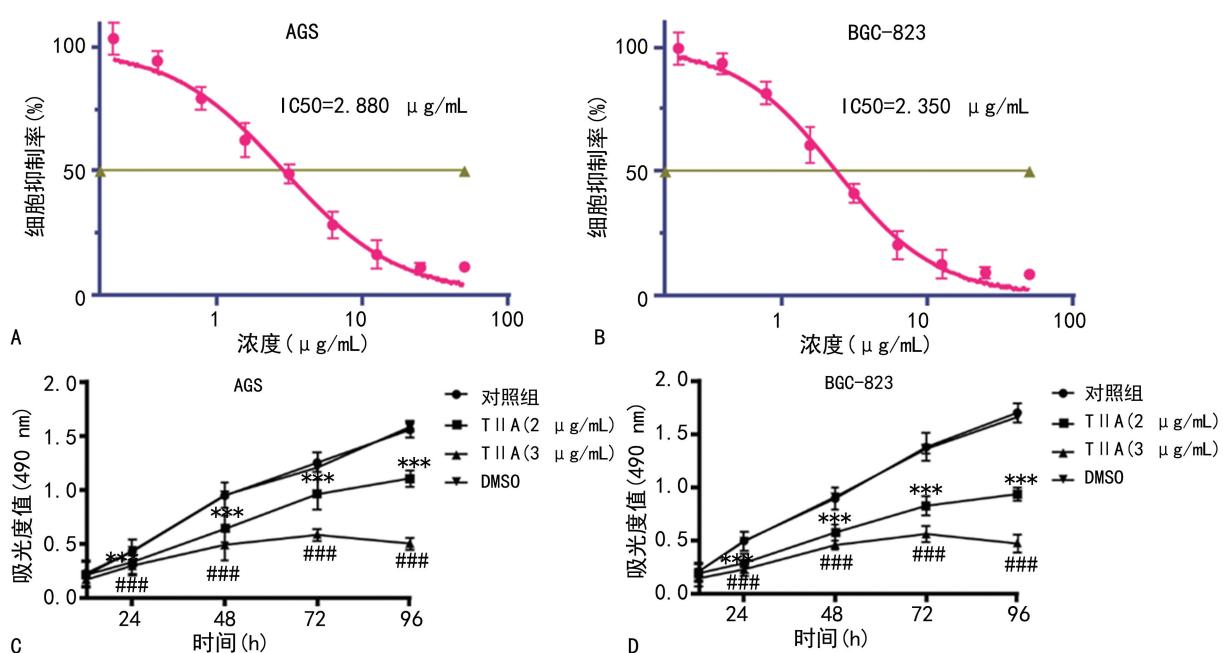
基因	序列	引物长度 (碱基对)
SLC7A11	正向:TCCTGCTTGGCTCCATGAACG	22
	反向:AGAGGAGTGTGCTTGCAGACAT	
PTGS2	正向:CGGTGAAACTCTGGCTAGACAG	22
	反向:GCAAACCGTAGATGCTCAGGG	
TP53	正向:TGCCGAGACTGATACTGAG	20
	反向:AAAACCTCAAAGTGGGTTA	
GAPDH	正向:TGACTTCAACAGCGACACCCA	21
	反向:CTACATGGCAACTGTGAGGAG	

**1.3.12 蛋白质印迹法(Western blot)** RIAP 裂解液裂解细胞,离心处理后提取总蛋白,按照 BCA 蛋白定量试剂盒对样品进行蛋白定量后,加入上样缓冲液,充分混匀,98 °C 煮 5 min。配制与蛋白分子量相匹配的凝胶进行电泳,用聚偏二氟乙烯(PVDF)膜活化液激活 PVDF 膜,随后将蛋白转至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉 4 °C 封闭过夜,加入 TP53、xCT 和 β-actin 抗体 4 °C 过夜孵育,TBST 清洗 15 min,清洗 2 遍,加入二抗室温孵育 2 h,TBST 清洗 3 次,每次 10 min。使用 ECL 法进行曝光显影。

**1.4 统计学处理** 所有组别至少 3 个重复,呈正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组比较采用两独立样本 t 检验,多组比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 TⅡA 可以抑制胃癌细胞 AGS 和 BGC-823 的生长** 不同浓度的 TⅡA 处理胃癌细胞 48 h 后,细胞增殖水平降低,IC<sub>50</sub> 分别为 2.880 μg/mL 和 2.350 μg/mL。为了进一步选择两种细胞系的最佳作用浓度,选择 IC<sub>50</sub> 附近的两个浓度处理细胞,分别在不同时间段检测细胞的存活率,结果显示 2 μg/mL 和 3 μg/mL 的 TⅡA 对细胞均有良好的抑制作用。与对照组比较,TⅡA 处理 24 h 后已经对细胞有明显的抑制作用( $P < 0.05$ ),随着时间的延长,抑制作用更加明显。最后通过比较,选择 TⅡA 浓度为 2 μg/mL,处理时间为 48 h 的条件用于后续的实验。见图 1。

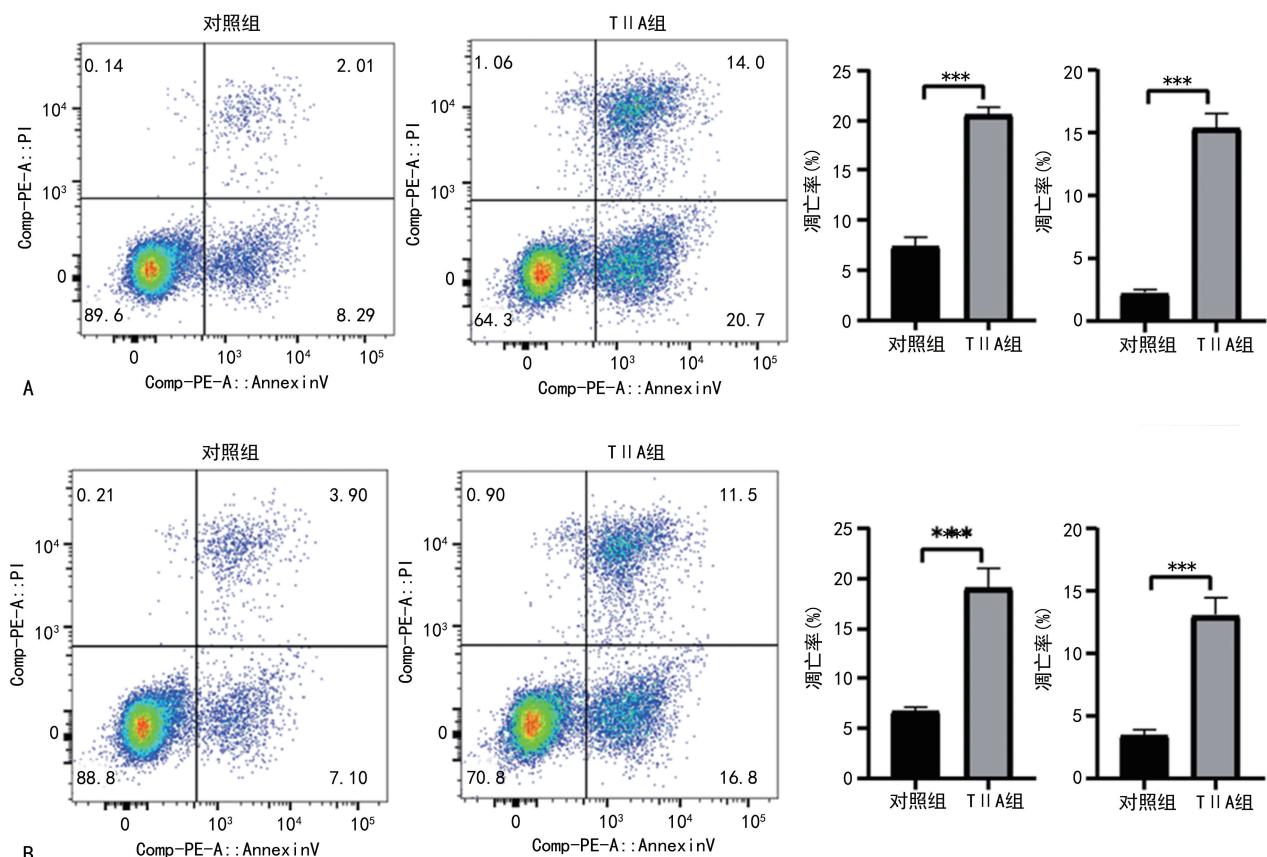


注:A、B 分别为 TⅡA 在 AGS 和 BGC-823 细胞中的 IC<sub>50</sub>;C、D 分别为 TⅡA 在 AGS、BGC-823 细胞中的浓度-时间生长曲线;与对照组比较,\*\*\*  $P < 0.001$ , # # #  $P < 0.001$ 。

图 1 TⅡA 可以抑制胃癌细胞生长

**2.2 TⅡA 能够促进胃癌细胞 AGS、BGC-823 的凋亡和死亡** 与对照组比较,用浓度为  $2 \mu\text{g}/\text{mL}$  的 TⅡA 处理细胞 48 h 后,胃癌细胞 AGS 凋亡率和死亡率分别为( $20.567 \pm 0.709$ )% 和( $15.333 \pm 1.193$ ),胃

癌细胞 BGC-823 凋亡率和死亡率分别为( $18.967 \pm 1.986$ )% 和( $13.000 \pm 1.375$ )%。胃癌细胞 AGS、BGC-823 的凋亡水平和死亡水平均升高( $P < 0.05$ ),见图 2。



注:A 为 TⅡA 对 AGS 细胞凋亡和死亡水平的影响;B 为 TⅡA 对 BGC-823 细胞凋亡和死亡水平的影响;与对照组比较,\*\*\*  $P < 0.001$ 。

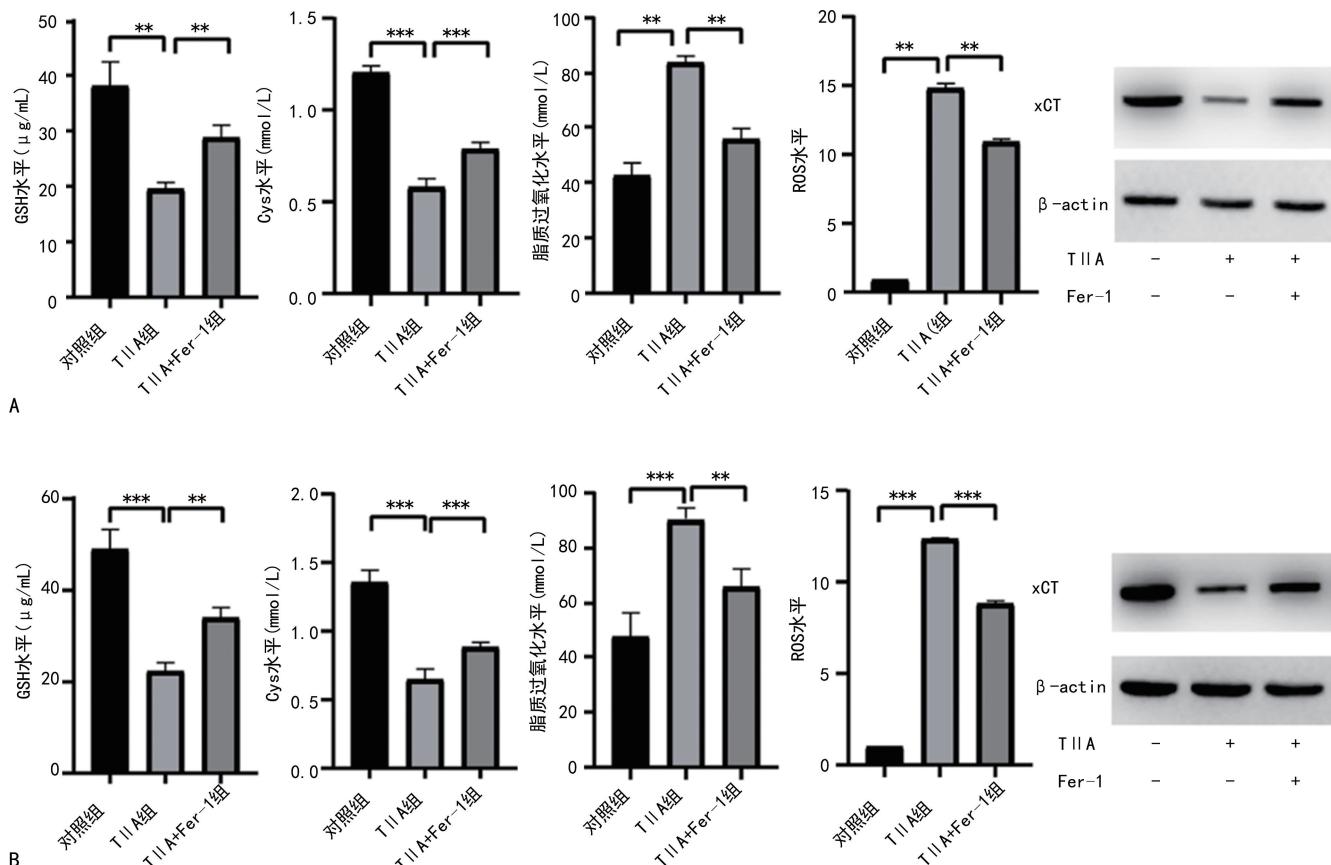
图 2 TⅡA 能促进细胞凋亡和死亡

**2.3 TⅡA 能促进胃癌细胞 AGS、BGC-823 铁死亡** 结果显示 TⅡA 处理后的胃癌细胞 AGS 和 BGC-823 内 GSH 水平分别为( $19.420 \pm 1.094$ ) $\mu\text{g}/\text{mL}$  和( $22.319 \pm 1.757$ ) $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,Cys 水平分别为( $0.794 \pm 0.036$ ) $\text{mmol}/\text{L}$  和( $0.880 \pm 0.036$ ) $\text{mmol}/\text{L}$ ,ROS 水平分别为( $14.643 \pm 0.298$ ) 和( $12.304 \pm 0.148$ ),脂质过氧化水平分别为( $83.467 \pm 2.516$ ) $\text{mmol}/\text{L}$  和( $90.133 \pm 4.041$ ) $\text{mmol}/\text{L}$ 。与正常细胞比较,经 TⅡA 处理后,胃癌细胞 AGS、BGC-823 内 GSH 和 Cys 水平均降低( $P < 0.05$ ),且细胞内 ROS 和脂质过氧化水平均升高( $P < 0.05$ )。另外,Western blot 结果显示,经 TⅡA 处理后的细胞内铁死亡关键调节蛋白分子 xCT 水平降低。TⅡA 和 Fer-1 联合处理后,胃癌细胞 AGS 和 BGC-823 中 GSH 水平分别为( $28.986 \pm 2.188$ ) $\mu\text{g}/\text{mL}$  和( $33.623 \pm 2.472$ ) $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,Cys 水平分别为( $0.584 \pm 0.043$ ) $\text{mmol}/\text{L}$  和( $0.650 \pm 0.075$ ) $\text{mmol}/\text{L}$ ,ROS 水平分别为( $10.902 \pm 0.097$ ) 和( $8.643 \pm 0.136$ ),脂质过氧化水平分别为

( $55.800 \pm 4.000$ ) $\text{mmol}/\text{L}$  和( $65.467 \pm 6.506$ ) $\text{mmol}/\text{L}$ 。与 TⅡA 组比较,TⅡA+Fer-1 组的 GSH 和 Cys 水平升高( $P < 0.05$ ),ROS 和脂质过氧化水平降低( $P < 0.05$ ),xCT 水平升高( $P < 0.05$ )。见图 3。

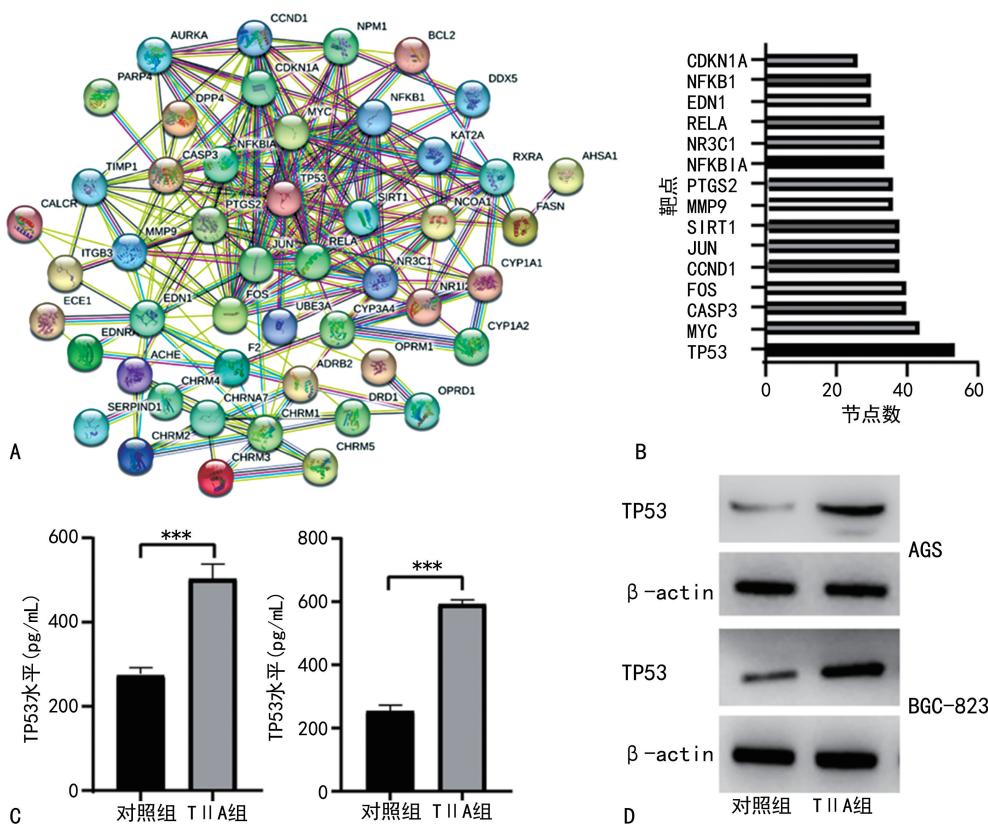
**2.4 TⅡA 潜在作用靶点的筛选及验证** 为了进一步探究 TⅡA 的有效作用靶点,通过 TCMSP 数据库得到 TⅡA 的潜在作用靶点。通过 String 构建蛋白互助网络(图 4A)。筛选出网络中节点数最多的 15 个基因,发现 TP53 是 TⅡA 的核心作用靶点(图 4B)。随后,通过 ELISA(图 4C)和 Western blot(图 4D)验证发现,与对照组比较,经过 TⅡA 处理后,胃癌细胞 AGS、BGC-823 内 TP53 水平升高( $P < 0.05$ )。

**2.5 TⅡA 通过上调 TP53 的表达,促进胃癌细胞 BGC-823 铁死亡** 与对照组比较,在胃癌细胞 BGC-823 中,TⅡA 能下调 SLC7A11 表达,上调 TP53、PTGS2 表达;而与 TⅡA 组比较,TⅡA+TP53 抑制剂组中 SLC7A11 水平升高,TP53 和 PTGS2 水平降低。见图 5。



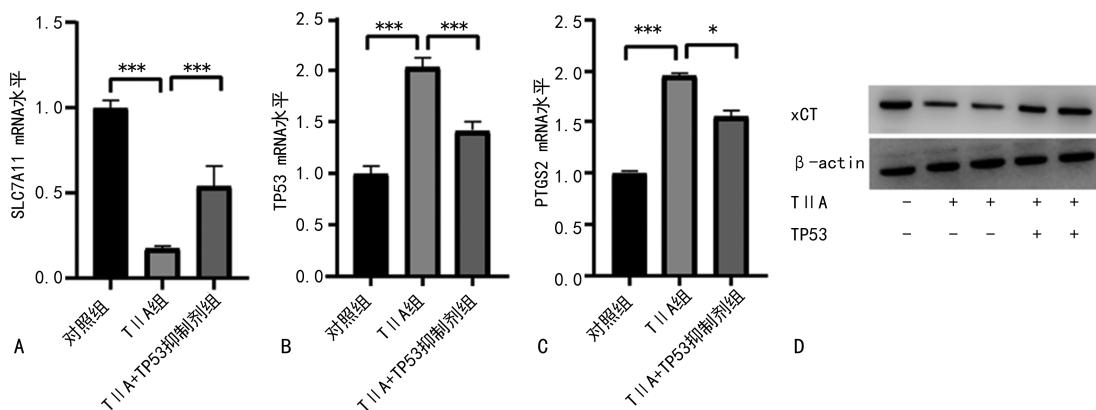
注: A 为 TⅡA 对胃癌细胞 AGS GSH、Cys、脂质过氧化、ROS、xCT 水平的影响; B 为 TⅡA 对胃癌细胞 BGC-823 GSH、Cys、脂质过氧化、ROS、xCT 水平的影响; 与对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ 。

图 3 TⅡA 能促进胃癌细胞发生铁死亡



注: A 为 TⅡA 靶点基因蛋白互助网络; B 为 TⅡA 核心靶点; C、D 分别为通过 ELISA 和 Western blot 检测 TP53 水平; 与对照组比较, \*\*\*  $P < 0.001$ 。

图 4 TⅡA 作用靶点的筛选和验证



注:A、B、C 分别为 TⅡA 联合 TP53 抑制剂对胃癌细胞 BGC-823 SLC7A11 mRNA、TP53 mRNA、PTGS2 mRNA 水平的影响;D 为 TⅡA 联合 TP53 抑制剂对胃癌细胞 BGC-823 xCT 蛋白水平的影响; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ 。

图 5 TⅡA 通过 TP53/xCT 促进胃癌细胞铁死亡

### 3 讨 论

TⅡA 是中药丹参的重要活性成分,主要用于预防和治疗心血管疾病。TⅡA 在肿瘤治疗方面也具有良好的效果,在乳腺癌中,TⅡA 能下调 miR-125b 的水平,增强下游靶基因 STARD13 的表达,进而减弱乳腺癌细胞的干性<sup>[17]</sup>;在结直肠癌中,TⅡA 通过抑制肠道炎症来减少结直肠癌的发生<sup>[18]</sup>;而在肺癌中,极光激酶 A/Polo 样激酶 1 通路则是 TⅡA 促进肺癌细胞凋亡的主要机制<sup>[19]</sup>。虽然已有研究证实 TⅡA 对胃癌细胞具有良好的作用<sup>[12-15]</sup>,但是关于其具体的作用机制仍需要进一步探究。在本研究中,选用胃癌细胞 AGS 和 BGC-823,在体外验证了 TⅡA 的抗癌作用,证实 TⅡA 能通过 TP53 下调 xCT 表达而引起细胞铁死亡。这可能为 TⅡA 在胃癌临床干预治疗中的应用提供重要的见解。

本研究发现 TⅡA 对胃癌细胞 AGS、BGC-823 的 IC<sub>50</sub> 分别为 2.880 μg/mL 和 2.350 μg/mL,说明 TⅡA 对胃癌细胞具有良好的生物学活性,这与其他研究者的结果一致<sup>[12]</sup>。浓度-时间生长曲线结果提示,2 μg/mL 的 TⅡA 就能显著抑制胃癌细胞的生长。为了进一步探究 TⅡA 抑制胃癌细胞生长的原因,用浓度为 2 μg/mL 的 TⅡA 处理胃癌细胞 AGS、BGC-823,流式细胞术结果提示 TⅡA 可以促进胃癌细胞 AGS 和 BGC-823 的凋亡和死亡。与对照组比较,TⅡA 组凋亡率和死亡率均升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。以上结果提示 TⅡA 主要通过促进细胞凋亡和死亡发挥抗癌作用。

铁死亡是一种区别于凋亡的新型细胞死亡方式,主要特征是细胞内 ROS 和脂质过氧化水平的升高<sup>[20]</sup>。为了进一步研究 TⅡA 引起胃癌细胞的死亡是否与铁死亡有关。本研究检测了铁死亡相关指标,包括 GSH、Cys、ROS 和脂质过氧化水平。经 TⅡA 处理后胃癌细胞 AGS、BGC-823 内 GSH、Cys 水平均降低,ROS、脂质过氧化水平均升高,与对照组比较,TⅡA 组 GSH、Cys、ROS 及脂质过氧化水平变化差

异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。以上结果说明 TⅡA 能降低细胞内 GSH、Cys 水平,升高 ROS、脂质过氧化水平,进而诱发细胞铁死亡。

xCT 是调节铁死亡的关键蛋白分子,在细胞发生铁死亡时,xCT 水平会降低<sup>[21]</sup>。在本研究中,TⅡA 能够抑制胃癌细胞 AGS、BGC-823 中 xCT 的表达,进一步说明 TⅡA 能引起细胞铁死亡。考虑到铁死亡可以被脂质过氧化抑制剂抑制<sup>[22]</sup>。Fer-1 主要作用是抑制细胞质膜的过氧化<sup>[23]</sup>。在本研究中,联合 TⅡA 和 Fer-1 处理胃癌细胞后,AGS、BGC-823 细胞中 GSH、Cys 水平均有不同程度升高,ROS、脂质过氧化水平则降低,与 TⅡA 组比较,TⅡA+Fer-1 组 GSH、Cys 水平均有不同程度的回升,ROS 和脂质过氧化水平有不同程度的降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。另外,与 TⅡA 组比较,TⅡA+Fer-1 组中 xCT 水平也有所升高。以上结果提示 Fer-1 能在一定程度上削弱 TⅡA 诱导的铁死亡作用,进一步证实 TⅡA 能够诱导胃癌细胞 AGS、BGC-823 发生铁死亡。

为了深入探究 TⅡA 引起铁死亡的作用机制,通过 TCMSD 数据库获取了 TⅡA 的潜在作用靶点,运用 String 在线工具构建了 TⅡA 相关靶点分子的蛋白互助网络,根据网络中蛋白分子之间的相互作用程度,得到 TP53 是 TⅡA 最核心的潜在靶点分子。另外,研究显示 TⅡA 与 TP53 在多种疾病中联系紧密<sup>[24-25]</sup>,随后验证了 TⅡA 在胃癌细胞 AGS 和 BGC-823 中与 TP53 的关系,结果显示经过 TⅡA 处理后,胃癌细胞内 TP53 水平均升高( $P < 0.05$ ),说明 TP53 是 TⅡA 在胃癌细胞 AGS、BGC-823 中发挥作用的关键分子。

考虑到 TP53 在其他疾病中参与了铁死亡的调控过程<sup>[26]</sup>,在本研究中,运用 TⅡA 和 TP53 抑制剂联合处理胃癌细胞 BGC-823 验证 TP53 是否参与了 TⅡA 调控胃癌细胞铁死亡这一假说。结果显示,TⅡA 联合 TP53 抑制剂处理细胞后,细胞中

SLC7A11 的 mRNA 水平升高, TP53 及另一个铁死亡标记分子 PTGS2 的 mRNA 水平降低, 与 TⅡA 组比较, TⅡA+TP53 抑制剂组 SLC7A11、TP53 和 PTGS2 的 mRNA 水平变化, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。以上结果说明 TP53 抑制剂可以减弱 TⅡA 引起的铁死亡效应, 进一步证实 TⅡA 可以通过 TP53 调节胃癌细胞铁死亡。

综上所述, 本研究充分证明了 TⅡA 对胃癌细胞 AGS、BGC-823 具有良好的抗癌作用, 铁死亡是 TⅡA 在胃癌细胞中发挥抗癌作用的一种途径, 且该途径能够通过 TP53/xCT 通路进行调控。本研究可为 TⅡA 在胃癌临床干预治疗中的应用提供新的方法。

## 参考文献

- [1] SMYTH E C, NILSSON M, GRABSCH H I, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2020, 396(10251): 635-648.
- [2] THRIFT A P, EL-SERAG H B. Burden of gastric cancer [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2020, 18(3): 534-542.
- [3] PETRYSZYN P, CHAPELLE N, MATYSIAK-BUDNIK T. Gastric cancer: where are we heading [J]. Dig Dis, 2020, 38(4): 280-285.
- [4] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [5] CAVATORTA O, SCIDA S, MIRAGLIA C, et al. Epidemiology of gastric cancer and risk factors[J]. Acta Biomed, 2018, 89(8): 82-87.
- [6] ZHANG X Y, ZHANG P Y. Gastric cancer: somatic genetics as a guide to therapy[J]. J Med Genet, 2017, 54 (5): 305-312.
- [7] ZHAO T T, XU H, XU H M, et al. The efficacy and safety of targeted therapy with or without chemotherapy in advanced gastric cancer treatment: a network meta-analysis of well-designed randomized controlled trials[J]. Gastric Cancer, 2018, 21(3): 361-371.
- [8] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. Cell, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [9] WANG Y, ZHENG L, SHANG W, et al. Wnt/beta-catenin signaling confers ferroptosis resistance by targeting GPX4 in gastric cancer[J]. Cell Death Differ, 2022, 29 (11): 2190-2202.
- [10] OUYANG S, LI H, LOU L, et al. Inhibition of STAT3-ferroptosis negative regulatory axis suppresses tumor growth and alleviates chemoresistance in gastric cancer [J]. Redox Biol, 2022, 52: 102317.
- [11] 杨艳, 韦炎龙, 方峰. 丹参中活性成分在心血管疾病中的研究进展[J]. 中医临床研究, 2020, 12(21): 37-40.
- [12] LU F, ZHANG Y, SONG P, et al. Tanshinone II A may inhibit gastric cancer via affecting the intestinal microbiome [J]. Comput Math Methods Med, 2022, 2022: 6960304.
- [13] YUAN F, ZHAO Z T, JIA B, et al. TSN inhibits cell proliferation, migration, invasion, and EMT through regulating miR-874/HMGB2/beta-catenin pathway in gastric cancer[J]. Neoplasma, 2020, 67(5): 1012-1021.
- [14] ZHANG Y, GUO S, FANG J, et al. Tanshinone II A inhibits cell proliferation and tumor growth by downregulating STAT3 in human gastric cancer[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(4): 2931-2937.
- [15] SU C C. Tanshinone II A inhibits gastric carcinoma AGS cells through increasing p-p38, p-JNK and p53 but reducing p-ERK, CDC2 and cyclin B1 expression[J]. Anticancer Res, 2014, 34(12): 7097-7110.
- [16] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, 6: 13.
- [17] LI X, JIA Q, ZHOU Y, et al. Tanshinone II A attenuates the stemness of breast cancer cells via targeting the miR-125b/STARD13 axis[J]. Exp Hematol Oncol, 2022, 11 (1): 2.
- [18] LIU L, GAO H, WEN T, et al. Tanshinone II A attenuates AOM/DSS-induced colorectal tumorigenesis in mice via inhibition of intestinal inflammation[J]. Pharm Biol, 2021, 59(1): 89-96.
- [19] LI Z, ZHANG Y, ZHOU Y, et al. Tanshinone II A suppresses the progression of lung adenocarcinoma through regulating CCNA2-CDK2 complex and AURKA/PLK1 pathway[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 23681.
- [20] CHEN X, KANG R, KROEMER G, et al. Broadening horizons: the role of ferroptosis in cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18(5): 280-296.
- [21] WEI G, WANG Y, YANG P, et al. Enhancing vulnerability of Afatinib using Erastin via xCT-mediated ROS/P38MAPK signaling feedback loop in gastric cancer cells [J]. Gene, 2023, 873: 147468.
- [22] YANG W S, SRIRAMARATNAM R, WELSCH M E, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. Cell, 2014, 156(1/2): 317-331.
- [23] HORWATH M C, BELL-HORWATH T R, LESCANO V, et al. Antifungal activity of the lipophilic antioxidant ferrostatin-1[J]. Chembiochem, 2017, 18(20): 2069-2078.
- [24] 李建, 王芳, 周军, 等. 丹参酮 II A 对 AD 大鼠脑组织 p53、pp53 表达及细胞凋亡的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2015, 40(11): 1210-1216.
- [25] 董音汝. P53 信号通路在丹参酮 II A 治疗心肌损伤中的作用机制研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2020.
- [26] CAI Y, LV L, LU T, et al. alpha-KG inhibits tumor growth of diffuse large B-cell lymphoma by inducing ROS and TP53-mediated ferroptosis[J]. Cell Death Discov, 2023, 9(1): 182.