

• 论 著 •

丹参酮 II A 对胃癌细胞的抗癌作用及机制探讨*

王 佩¹, 杨振宇², 袁利娟², 唐海利^{2△}

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 II A (T II A) 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 T II A 在胃癌细胞 AGS、BGC-823 中的半抑菌浓度 (IC₅₀)。选择合适浓度的 T II A, 采用流式细胞术分析 T II A 对细胞凋亡和死亡的影响。将胃癌细胞 AGS、BGC-823 分为对照组、T II A 组和 T II A + 铁死亡抑制剂 Fer-1 组 (T II A + 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 T II A 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 T II A 对胃癌细胞 AGS、BGC-823 具有良好的抗癌作用, IC₅₀ 分别为 2.880 $\mu\text{g/mL}$ 和 2.350 $\mu\text{g/mL}$ 。T II A 能抑制胃癌细胞 AGS、BGC-823 的生长, 促进其凋亡和死亡。T II A 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 T II A 重要的作用靶点。T II A 能促进 TP53 的表达, 抑制 xCT 的表达, Fer-1 能削弱 T II A 对 TP53、xCT 表达的影响。加入 TP53 抑制剂后, T II A 对 SLC7A11、PTGS2、TP53 的作用减弱 ($P < 0.05$)。

结论 T II A 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 II A; 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 II A on gastric cancer cells*

WANG Pei¹, YANG Zhenyu², YUAN Lijuan², TANG Haili^{2△}

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 II A (T II A) 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 T II A in gastric cancer cells AGS and BGC-823 were calculated based on MTT colorimetric assay. The appropriate concentration of T II A was selected. The effects of T II A on cell apoptosis and death were analyzed by flow cytometry. Gastric cancer cells AGS and BGC-823 were divided into control group, T II A group and T II A + ferroptosis inhibitor Fer-1 group (T II A + 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 T II A 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** T II A had a good anticancer effect on gastric cancer cells AGS and BGC-823 with IC₅₀ of 2.880 $\mu\text{g/mL}$ and 2.350 $\mu\text{g/mL}$, respectively. T II A could inhibit the growth and promote apoptosis and death of gastric cancer cells AGS and BGC-823. T II A 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 T II A. T II A 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\(2024-06-17\)](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 T II A on the expression of TP53 and xCT. After adding TP53 inhibitor, the effects of T II A on SLC7A11, PTGS2, and TP53 were weakened ($P < 0.05$). **Conclusion** T II A 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 II A; 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^[1]。全世界每年至少有 100 万人被诊断为胃癌^[2-3]。发展中国家有超过 70% 的胃癌患者^[4]。据估计,胃癌患者的 5 年生存率低于 20%^[5],晚期胃癌患者的中位生存期更是小于 12 个月^[6-7]。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^[8]。在胃癌中,铁死亡同样具有非常重要的作用^[9-10]。丹参酮 II A (T II A) 是中药丹参的重要活性成分,主要用于治疗心血管疾病^[11]。目前已经有研究表明, T II A 可以通过多种途径抑制胃癌细胞的生长^[12-15],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 T II A 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)。T II A 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 °C、5% CO₂。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 T II A、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 T II A、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 °C、5% CO₂ 条件下过夜培养。处理组按照倍比稀释法加入不同浓度的 T II A,最高浓度为 50 μ g/mL,最低浓度为 0.195 313 μ g/mL。培养 48 h 后,加入 20 μ L 浓度为 5 mg/mL 的 MTT 溶液继续培养 4 h。弃培养液,加入 150 μ L 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 Prism 8.0 软件计算半抑菌浓度 (IC₅₀)。

1.3.4 T II A 对细胞存活率的检测 对照组和处理组 (2 μ g/mL 和 3 μ g/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 μ g/mL 的 T II A 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 T II A 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 μ g/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 T II A 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 T II A 潜在作用靶点及通路 中药系统药理学 (TCMSP)^[16] 数据库用来筛选 T II A 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 T II A 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 T II A 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 ℃ 15 s,60 ℃ 60 s,95 ℃ 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。

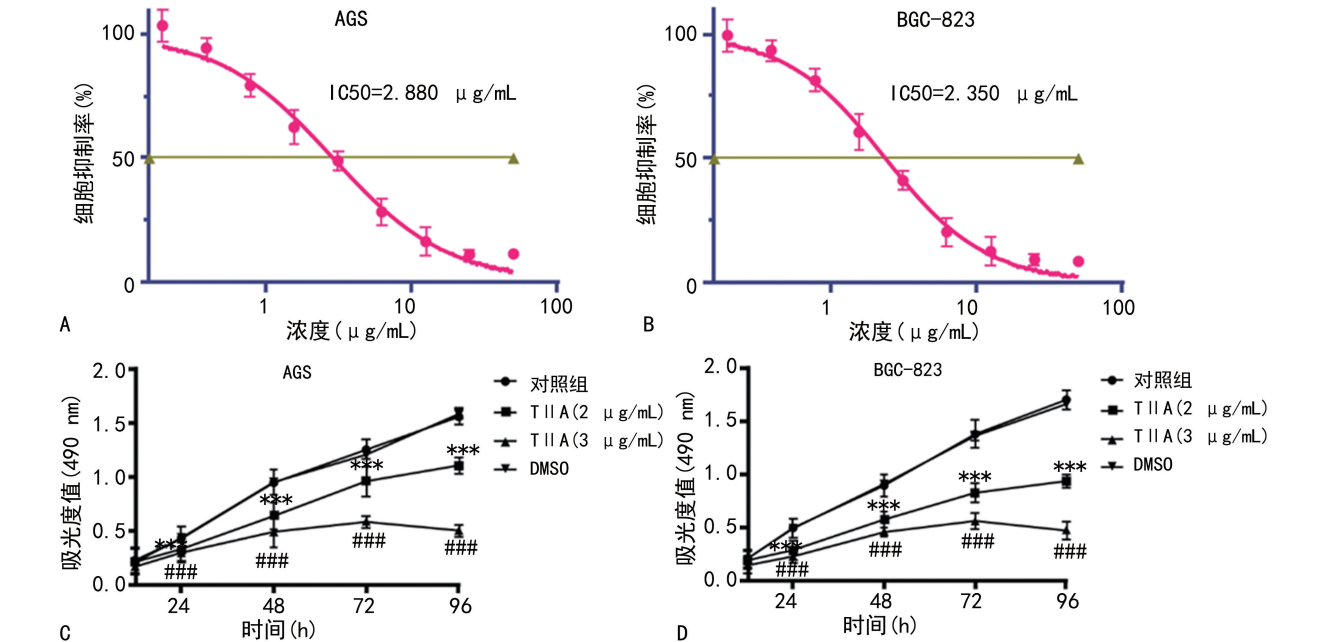
表 1 qPCR 引物信息		
基因	序列	引物长度 (碱基对)
SLC7A11	正向:TCCTGCTTTGGCTCCATGAACG	22
	反向:AGAGGAGTGTGCTTGCGGACAT	
PTGS2	正向:CGGTGAAACTCTGGCTAGACAG	22
	反向:GCAAACCGTAGATGCTCAGGGA	
TP53	正向:TGCCGAGACTGATAGCTGAG	20
	反向:AAAACCTCAAAGTGGGGTTA	
GAPDH	正向:TGACTTCAACAGCGACACCCA	21
	反向:CTACATGGCAACTGTGAGGAG	

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 ℃ 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 ℃ 封闭过夜,加入 TP53、xCT 和 β -actin 抗体 4 ℃ 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 T II A 可以抑制胃癌细胞 AGS 和 BGC-823 的生长 不同浓度的 T II A 处理胃癌细胞 48 h 后,细胞增殖水平降低,IC₅₀ 分别为 2.880 μ g/mL 和 2.350 μ g/mL。为了进一步选择两种细胞系的最佳作用浓度,选择 IC₅₀ 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 μ g/mL 和 3 μ g/mL 的 T II A 对细胞均有良好的抑制作用。与对照组比较,T II A 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 T II A 浓度为 2 μ g/mL,处理时间为 48 h 的条件用于后续的实验。见图 1。

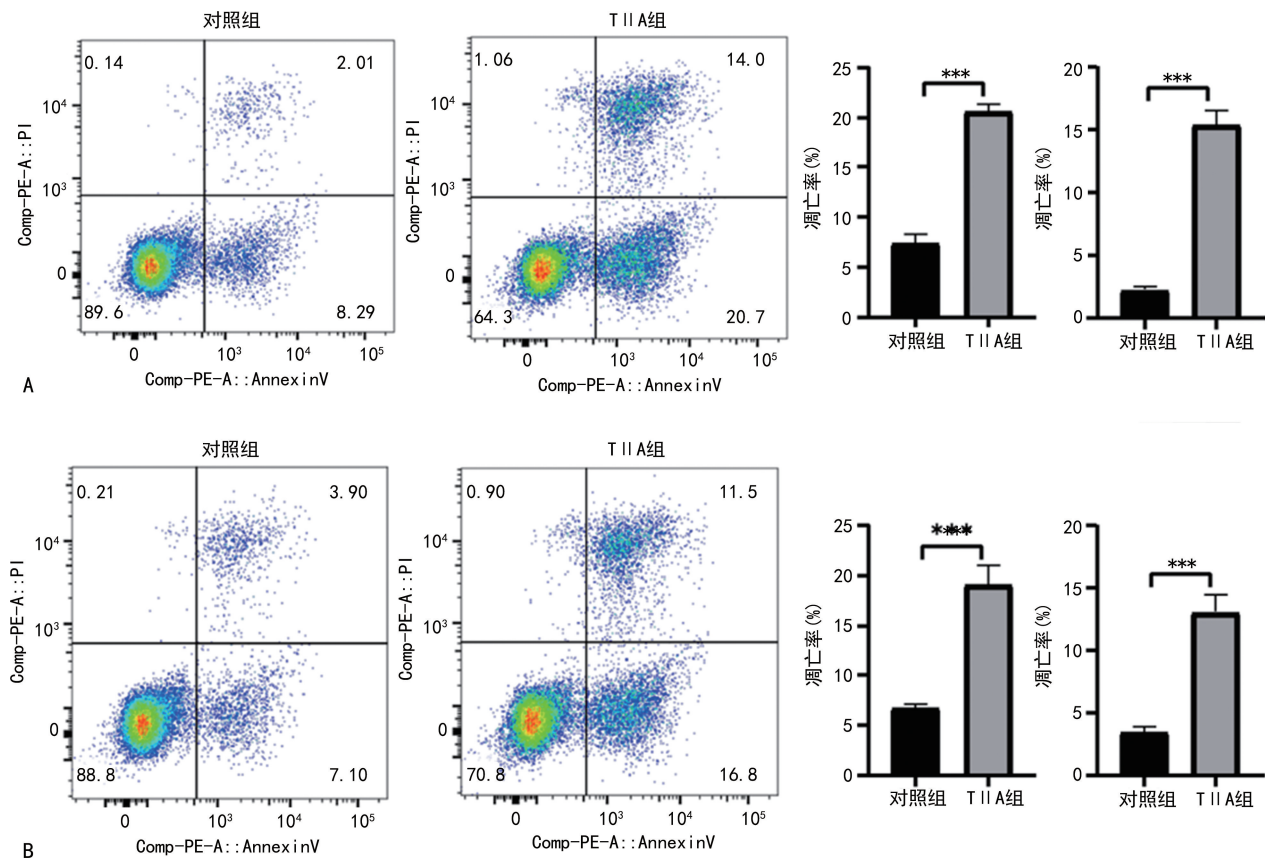


注:A、B 分别为 T II A 在 AGS 和 BGC-823 细胞中的 IC₅₀;C、D 分别为 T II A 在 AGS、BGC-823 细胞中的浓度-时间生长曲线;与对照组比较,*** $P < 0.001$,### $P < 0.001$ 。

图 1 T II A 可以抑制胃癌细胞生长

2.2 T II A 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 $\mu\text{g/mL}$ 的 T II A 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T II A对AGS细胞凋亡和死亡水平的影响;B为T II A对BGC-823细胞凋亡和死亡水平的影响;与对照组比较,*** $P<0.001$ 。

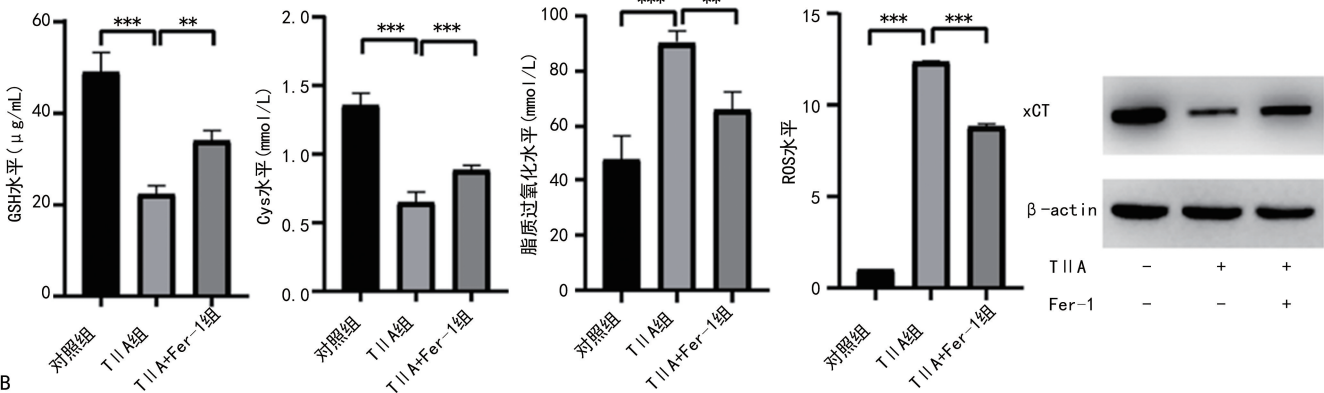
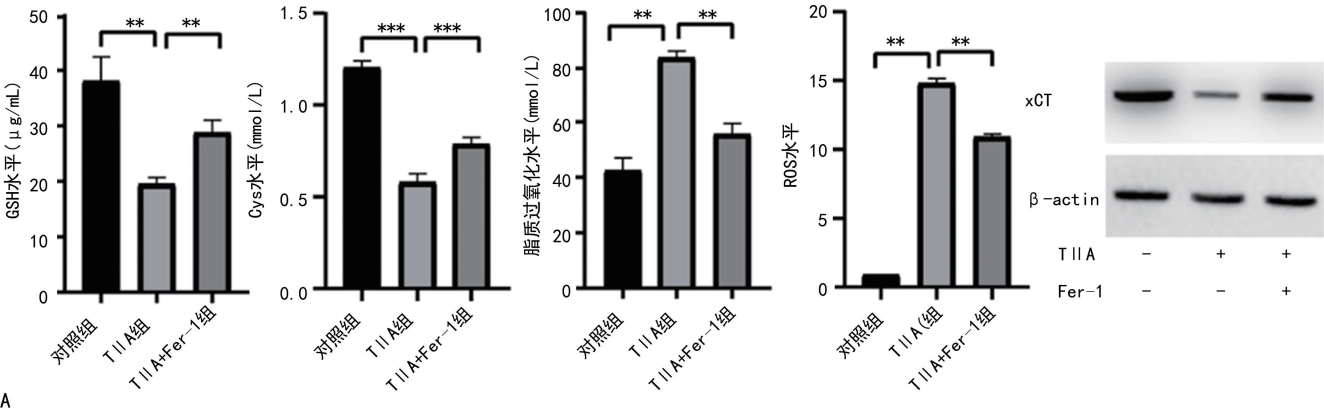
图 2 T II A 能促进细胞凋亡和死亡

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

$(55.800\pm 4.000)\text{mmol/L}$ 和 $(65.467\pm 6.506)\text{mmol/L}$ 。与 T II A 组比较,T II A+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。

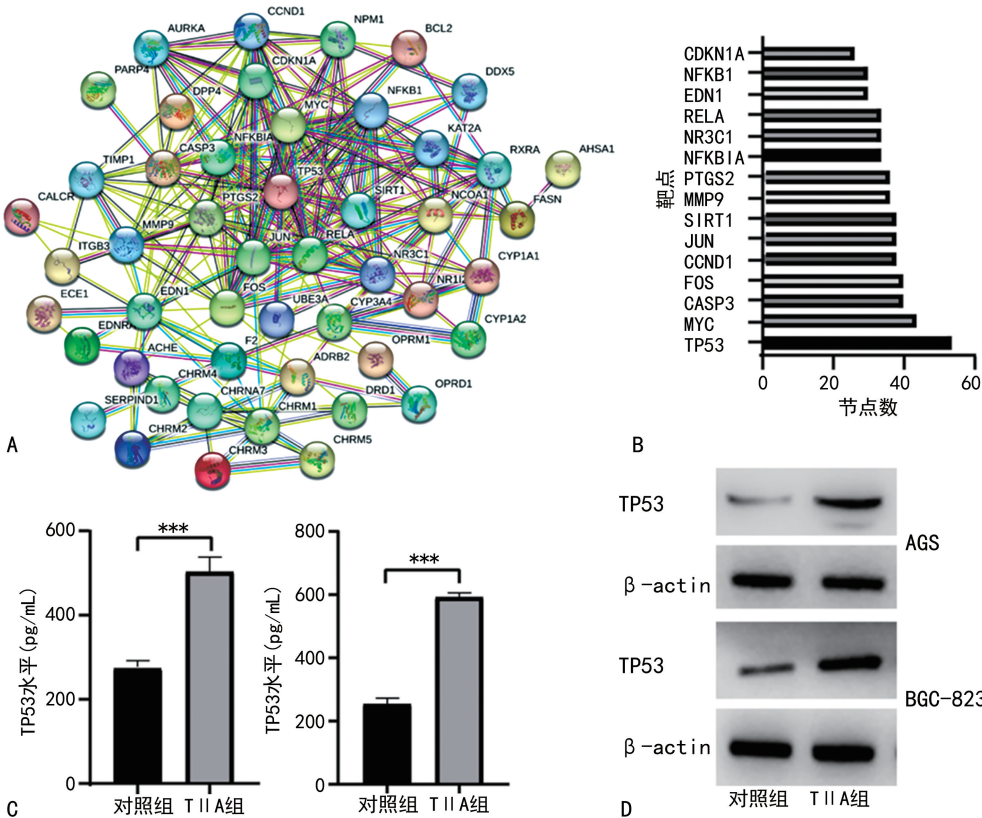
2.4 T II A 潜在作用靶点的筛选及验证 为了进一步探究 T II A 的有效作用靶点,通过 TCMSP 数据库得到 T II A 的潜在作用靶点。通过 String 构建蛋白互助网络(图 4A)。筛选出网络中节点数最多的 15 个基因,发现 TP53 是 T II A 的核心作用靶点(图 4B)。随后,通过 ELISA(图 4C)和 Western blot(图 4D)验证发现,与对照组比较,经过 T II A 处理后,胃癌细胞 AGS、BGC-823 内 TP53 水平升高($P<0.05$)。

2.5 T II A 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,T II A 能下调 SLC7A11 表达,上调 TP53、PTGS2 表达;而与 T II A 组比较,T II A+TP53 抑制剂组中 SLC7A11 水平升高,TP53 和 PTGS2 水平降低。见图 5。



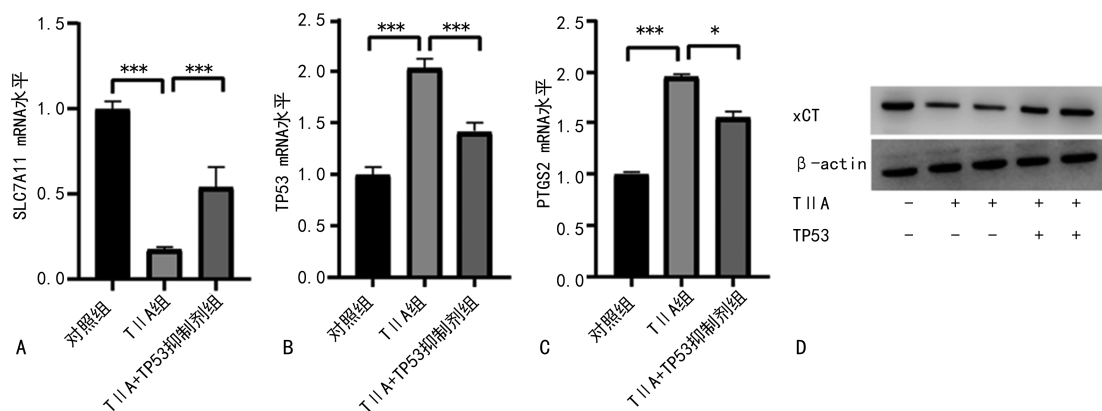
注:A为TIIA对胃癌细胞AGS GSH、Cys、脂质过氧化、ROS、xCT水平的影响;B为TIIA对胃癌细胞BGC-823 GSH、Cys、脂质过氧化、ROS、xCT水平的影响;与对照组比较,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

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 TII A 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 TII A 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 TII A 通过 TP53/xCT 促进胃癌细胞铁死亡

3 讨 论

TII A 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。TII A 在肿瘤治疗方面也具有良好的效果,在乳腺癌中,TII A 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^[17];在结直肠癌中,TII A 通过抑制肠道炎症来减少结直肠癌的发生^[18];而在肺癌中,极光激酶 A/Polo 样激酶 1 通路则是 TII A 促进肺癌细胞凋亡的主要机制^[19]。虽然已有研究证实 TII A 对胃癌细胞具有良好的作用^[12-15],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 TII A 的抗癌作用,证实 TII A 能通过 TP53 下调 xCT 表达而引起细胞铁死亡。这可能为 TII A 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 TII A 对胃癌细胞 AGS、BGC-823 的 IC₅₀ 分别为 2.880 μg/mL 和 2.350 μg/mL,说明 TII A 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^[12]。浓度-时间生长曲线结果提示,2 μg/mL 的 TII A 就能显著抑制胃癌细胞的生长。为了进一步探究 TII A 抑制胃癌细胞生长的原因,用浓度为 2 μg/mL 的 TII A 处理胃癌细胞 AGS、BGC-823,流式细胞术结果提示 TII A 可以促进胃癌细胞 AGS 和 BGC-823 的凋亡和死亡。与对照组比较,TII A 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 TII A 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^[20]。为了进一步研究 TII A 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 TII A 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,TII A 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 TII A 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^[21]。在本研究中,TII A 能够抑制胃癌细胞 AGS、BGC-823 中 xCT 的表达,进一步说明 TII A 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^[22]。Fer-1 主要作用是抑制细胞质膜的过氧化^[23]。在本研究中,联合 TII A 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 TII A 组比较,TII A+Fer-1 组 GSH、Cys 水平均有不同程度的回升,ROS 和脂质过氧化水平均有不同程度的降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。另外,与 TII A 组比较,TII A+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 TII A 诱导的铁死亡作用,进一步证实 TII A 能够诱导胃癌细胞 AGS、BGC-823 发生铁死亡。

为了深入探究 TII A 引起铁死亡的作用机制,通过 TCMSP 数据库获取了 TII A 的潜在作用靶点,运用 String 在线工具构建了 TII A 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 TII A 最核心的潜在靶点分子。另外,研究显示 TII A 与 TP53 在多种疾病中联系紧密^[24-25],随后验证了 TII A 在胃癌细胞 AGS 和 BGC-823 中与 TP53 的关系,结果显示经过 TII A 处理后,胃癌细胞内 TP53 水平均升高($P<0.05$),说明 TP53 是 TII A 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^[26],在本研究中,运用 TII A 和 TP53 抑制剂联合处理胃癌细胞 BGC-823 验证 TP53 是否参与了 TII A 调控胃癌细胞铁死亡这一假说。结果显示,TII A 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 T II A 组比较, T II A+ 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 T II A 引起的铁死亡效应, 进一步证实 T II A 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 T II A 对胃癌细胞 AGS、BGC-823 具有良好的抗癌作用, 铁死亡是 T II A 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 T II A 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, CHAPPELLE 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 microbi-

- ome[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.