

引用:王玲,高翔,高爽,汪唐顺,冯雪,王玉坤,孙萍,左禧萌,史晓光.槐耳多糖诱导三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞铁死亡的作用机制[J].中医药导报,2025,31(8):47-52.

槐耳多糖诱导三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞 铁死亡的作用机制^{*}

王 玲,高 翔,高 爽,汪唐顺,冯 雪,王玉坤,孙 萍,左禧萌,史晓光
(北京中医药大学东直门医院,北京 100700)

[摘要] 目的:探讨槐耳多糖诱导三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞铁死亡的作用机制。方法:通过CCK-8实验检测槐耳多糖不同浓度、不同干预时间对MDA-MB-231细胞活性的影响;取对数生长期的MDA-MB-231细胞,随机分成6组,分别为对照组(NC组)、槐耳多糖组(PS-T组)、槐耳多糖+铁诱导剂组(PS-T+Erastin组)、铁诱导剂组(Erastin组)、紫杉醇组(PTX组)和槐耳多糖+紫杉醇组(PS-T+PTX组),用克隆形成实验检测各组MDA-MB-231细胞的增殖情况;用铁死亡相关试剂盒检测细胞内亚铁离子(Fe^{2+})、谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)的含量;通过JC-1线粒体膜电位检测试剂盒检测MDA-MB-231细胞的线粒体膜电位,并用流式细胞仪进行分析;用DCFH-DA探针对活性氧(ROS)进行检测,并用荧光显微镜进行分析;用实时定量PCR仪检测MDA-MB-231细胞内p53 mRNA、SLC7A11 mRNA、GPX4 mRNA、TFR1 mRNA和DMT1 mRNA的表达情况。结果:与NC组比较,乳腺癌细胞的活力随槐耳多糖的浓度升高而逐渐降低($P<0.05$),且24 h比48 h的作用更显著;与NC组比较,PS-T组、PS-T+Erastin组、Erastin组、PTX组和PS-T+PTX组的克隆形成率、GSH含量、线粒体膜电位以及GPX4 mRNA和SLC7A11 mRNA表达均显著下降,而 Fe^{2+} 、MDA含量、ROS水平以及DMT1 mRNA、TFR1 mRNA和p53 mRNA表达则显著升高($P<0.05$);与PS-T组比较,PS-T+Erastin组和PS-T+PTX组的克隆形成率、GSH含量、线粒体膜电位以及GPX4 mRNA和SLC7A11 mRNA表达均下调,而 Fe^{2+} 、MDA含量、ROS水平以及DMT1 mRNA、TFR1 mRNA和p53 mRNA表达则上调($P<0.05$)。结论:槐耳多糖可以诱导三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞的铁死亡,其作用机制可能与 Fe^{2+} 积累和脂质过氧化相关。

[关键词] 乳腺恶性肿瘤;槐耳多糖;铁死亡;线粒体膜电位;脂质过氧化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2025)08-0047-06

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.08.008

Mechanism of Sophora Polysaccharide Inducing Ferroptosis in Triple-Negative Breast Cancer MDA-MB-231 Cells

WANG Ling, GAO Xiang, GAO Shuang, WANG Tangshun, FENG Xue, WANG Yukun,

SUN Ping, ZUO Ximeng, SHI Xiaoguang

(Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] Objective: To investigate the mechanism of ferroptosis induced by sophora polysaccharides in triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cells. Methods: CCK-8 assay was used to detect the effects of different concentrations and different times of polysaccharides on the activity of MDA-MB-231 cells. The MDA-MB-231 cells in logarithmic growth phase were randomly divided into 6 groups, including control group (NC group), sophora polysaccharide group (PS-T group), sophora polysaccharide + iron induction dose group (PS-T+Erastin group), iron inducer group (Erastin group), paclitaxel group (PTX group) and sophora polysaccharide + paclitaxel group (PS-T+PTX group). The proliferation of MDA-MB-231 cells in each group was detected by clonal formation assay. The contents of ferrous ions (Fe^{2+}), glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) were detected with ferroptosis-related kits. The mitochondrial membrane potential of MDA-MB-231 cells was detected

*基金项目:国家自然科学基金项目(82474510);湖北陈孝平科技发展基金会专项基金项目(CXPJJH12000002-2020010);北京中医药大学青年教师项目(2022-BUCMXJKY009)

通信作者:史晓光,男,主任医师,研究方向为中西结合防治乳腺相关疾病

by JC-1 mitochondrial membrane potential detection kit and analyzed by flow cytometry. DCFH-DA probe was used to detect reactive oxygen (ROS), and fluorescence microscope was used for analysis. The p53 mRNA, SLC7A11 mRNA, GPX4 mRNA, TFR1 mRNA and DMT1 mRNA levels of MDA-MB-231 were detected by real-time quantitative PCR instrument. Results: Compared with NC group, the viability of breast cancer cells decreased gradually with the increase of the concentration of sophora polysaccharides ($P<0.05$), and the effect was more significant in 24 h than in 48 h. Compared with NC group, the clone formation rate, GSH content, mitochondrial membrane potential, GPX4 mRNA expression and SLC7A11 mRNA expression decreased in PS-T group, PS-T+Erastin group, Erastin group, PTX group and PS-T+PTX group, while Fe^{2+} , MDA content, ROS level, DMT1 mRNA expression, TFR1 mRNA expression and p53 mRNA expression were significantly increased ($P<0.05$). Compared with PS-T group, the clonogenic rate, GSH content, mitochondrial membrane potential, GPX4 mRNA expressions and SLC7A11 mRNA expressions were down-regulated in PS-T+Erastin group and PS-T+PTX group, while Fe^{2+} , MDA content, ROS levels, DMT1 mRNA expression, TFR1 mRNA expression, and p53 mRNA expression were up-regulated ($P<0.05$). Conclusion: Sophora polysaccharides can induce ferroptosis in triple negative breast cancer MDA-MB-231 cells, and its mechanism may be related to Fe^{2+} accumulation and lipid peroxidation.

[Keywords] malignant tumors of the breast; sophora polysaccharides; ferroptosis; mitochondrial membrane potential; lipid peroxidation

乳腺恶性肿瘤(breast cancer, BC),简称乳癌,是女性群体中极为常见的恶性肿瘤之一。在全球范围来看,其发病率与死亡率呈现出逐年攀升的态势^[1]。2020年中央癌症协会和2021年国家卫生统计中心所发布的数据显示,乳腺癌的发病率已然跃居女性恶性肿瘤之首,同时,它也是致使女性因癌症死亡的关键原因^[2]。鉴于乳腺恶性肿瘤存在预后差、容易复发和转移等特点,积极探寻新型的治疗方法已然成为当务之急。近些年来,中草药研究的不断深入,为肿瘤治疗带来了新的契机。槐耳多糖(the polysaccharides of trametes robiniorophila murr, PS-T)作为传统中草药槐耳的主要成分之一,受到了诸多关注。已有多项研究表明槐耳多糖在治疗肝癌、肺癌、结直肠癌等^[3-5]方面都展现出了抗肿瘤作用。另有研究发现,槐耳多糖能够对乳腺癌的生物学行为产生影响^[6],尤其在治疗三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)方面更是具备巨大的潜力^[7-9]。而槐耳多糖是临床常用药物槐耳颗粒的主要成分。在临床实践中,槐耳颗粒常被用于治疗TNBC,并且已有研究证实其对TNBC的治疗效果^[10-11],然而其具体作用机制仍未阐明。铁死亡(ferroptosis)是一种铁依赖性的脂质过氧化积累诱发的新型细胞死亡方式,正逐渐成为研究热点^[12]。越来越多的证据显示,三阴性乳腺癌与铁死亡机制之间存在着紧密的关联。有研究^[13]发现,红景天苷能通过PI3K/Akt/mTOR信号通路使TNBC对铁死亡敏感。YE S Y等^[14]也证实了冬凌草甲素可通过调节氧化应激信号通路JNK/Nrf2/HO-1促进RSL3诱导的TNBC细胞铁死亡。然而,关于槐耳提取物PS-T治疗TNBC的铁死亡机制目前尚无相关报道。因此,本文以三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞为研究对象,用PS-T干预MDA-MB-231细胞,观察PS-T对MDA-MB-231细胞铁死亡的影响,以期为其临床治疗提供新的理论依据和潜在治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞培养 三阴性乳腺癌MDA-MB-231细胞来自北京中医药大学史晓光课题组保存细胞系,用含10%胎牛血清的

DMEM培养基于37℃、5%CO₂培养箱中培养。

1.2 药物与仪器

1.2.1 药物 槐耳多糖(上海源叶公司,批号:N06GS166423,纯度60%);铁诱导剂(Erastin,批号:81854)、紫杉醇(paclitaxel, PTX,批号:191930-58-2)均购自MCE公司;CCK-8试剂盒(批号:22319483)、铁试剂盒(批号:23081840)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(批号:23081981)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)试剂盒(批号:23081920)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)试剂盒(批号:23072184)均购自Biosharp公司;JC-1试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号:120822230175)。

1.2.2 主要仪器 5%CO₂培养箱(长沙华曦电子科技有限公司,型号:YCP系列气套二氧化碳培养箱);医用荧光定量PCR仪(鲲鹏(徐州)科学仪器有限公司,型号:ArchimedX4);流式检测仪(必达科公司,型号:BeamCyte-1026);荧光显微镜(Nikon公司,型号:ECLIPSE Ci);酶标仪(BIORAD公司,型号:Model 550);离心机(恒诺仪器公司,型号:AXTGL16M);高速冷冻型微量离心机(SCILOGEX公司,型号:CF1524R);显微镜(广州明慧公司,型号:NIB610)。

1.3 CCK-8检测 在96孔板中每孔接种 1×10^4 个细胞,每组设6个复孔,待细胞贴壁后,分别加入不同浓度PS-T(0、2、4、8、16、32、64、128 μmol/L),继续培养24 h或48 h,然后每孔避光加入10 μL CCK-8试剂,37℃、5%CO₂条件下孵育1 h,在450 nm波长下用分光光度计检测吸光度值(optical density, OD)。细胞存活率%=(OD_{实验组}-OD_{NC组})/(OD_{NC组}-OD_{NC组})。重复3次。

1.4 克隆形成实验 在6孔板中每孔接种5 000个细胞,培养24 h后,将其随机分为6组,即对照组(NC组)、槐耳多糖组(PS-T,32 μg/mL)、槐耳多糖+铁诱导剂组(PS-T+Erastin:32 μg/mL+2 μg/mL)、铁诱导剂组(Erastin, 2 μg/mL)、紫杉醇组(PTX, 2.5 μmol/mL)、槐耳多糖+紫杉醇组(PS-T+PTX:32 μg/mL+2.5 μmol/mL),分别加入相应的药物进行培养,每3 d换一次液,培养14 d,然后用4%多聚甲醛固定30 min,再用结晶紫染色

30 min,拍照,重复3次。最后用Image J软件统计和分析细胞克隆面积。

1.5 Fe²⁺、MDA和GSH试剂盒检测 按“1.4”项下方法进行分组、干预,培养细胞至对数期,经消化后收集到离心管内,离心后弃去上清,取5×10⁶个细胞加入1 mL提取液,超声波破碎细胞,12 000 r/min,4 ℃离心15 min(离心半径为10 cm),取上清液,置冰上待测。按要求加入96孔板中,立即混匀,静置。在酶标仪波长为412 nm下读取GSH吸光度值A, $\Delta A=A_{\text{测定管}}-A_{\text{对照管}}$ 。在波长为562 nm读取Fe²⁺吸光度值A。在波长532 nm和600 nm处读取MDA吸光度值A, $\Delta A=A_{532}-A_{600}$ 。重复3次。

1.6 ROS检测 按“1.4”项下方法进行分组、干预,在共聚焦皿中接种细胞密度为1×10⁵个/孔,贴壁后,加药干预24 h,每皿加入含有H2DCFDA的无血清培养基,使其终浓度为10 μmol/L,37 ℃、5%CO₂培养箱中孵育30 min,用无血清培养基洗涤2次,使用荧光显微镜获得图像。重复3次。最后用Image J软件计算平均荧光强度。

1.7 JC-1检测线粒体膜电位 按“1.4”项下方法进行分组、干预,在6孔板中每孔接种细胞密度为1×10⁵个,待贴壁后,加入含有JC-1的无血清培养基重悬细胞,颠倒混匀,37 ℃孵育20 min,离心(3 000 r/min,4 ℃离心4 cm,离心半径为10 cm),去上清,PBS洗涤2次,适量缓冲液重悬细胞,置入流式细胞仪,观察红/绿荧光。重复3次。

1.8 RT-qPCR检测铁死亡相关基因表达 按“1.4”项下方法进行分组、干预,用Trizol提取各组细胞的总RNA,并测定RNA浓度。根据反转录试剂盒说明书将RNA逆转录为cDNA,反应条件为:25 ℃ 10 min,55 ℃ 15 min,85 ℃ 5 min,接着以cDNA为模板进行扩增。加入引物等反应体系,混匀,上机。设定反应程序为:预变性95 ℃ 30 s;变性95 ℃ 10 s;退火及延伸60 ℃ 30 s。PCR引物序列见表1。

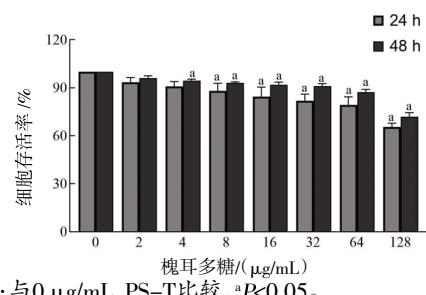
表1 PCR引物序列

目的基因	引物序列	扩增产物长度/bp
p53	正义链:CAGCACATGAGACGGAGGTTGT 反义链:TCATCCAATACTCCACACGCC	124
SLC7A11	正义链:TCTCCAAAGGAGGTTACCTGC 反义链:AGACTCCCCTCAGTAAAGTGAC	120
GPX4	正义链:GAGGCAAGACCGAAGTAAACTAC 反义链:CCGAACATGGTTACACGGAA	123
DMT1	正义链:CCAGTAATGAGTGACTTGGCAA 反义链:GCAGCCACCACATATAATGCC	100
TFR1	正义链:AGTTGAACAAAGTGGCACGAGCAG 反义链:AGCAGTTGGCTGTTGACCTCTCA	143
GAPDH	正义链:GGGGCTCTCAGAACATC 反义链:TGACACGTTGGCATGG	112

1.9 统计学方法 采用GraphPad Prism 9.5.1进行数据分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-t检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PS-T对MDA-MB-231细胞的活性影响 与NC组比较,随着PS-T浓度的增加,MDA-MB-231细胞的存活率逐渐降低($P<0.05$),呈浓度依赖性,且24 h的抑制效果比48 h效果更显著。因此,选择32 μg/mL PS-T进行后续实验。(见图1)



注:与0 μg/mL PS-T比较, $^aP<0.05$ 。

图1 不同浓度PS-T对MDA-MB-231细胞存活率的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

2.2 PS-T对MDA-MB-231细胞克隆形成的影响 与NC组比较,PS-T组、PS-T+Erastin组、Erastin组、PTX组和PS-T+PTX组的克隆数减少($P<0.05$);与PS-T组比较,PS-T+Erastin组和PS-T+PTX组的克隆显著减少($P<0.05$)。(见图2~3)

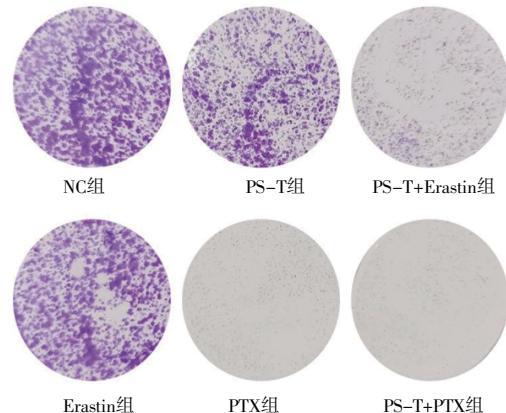
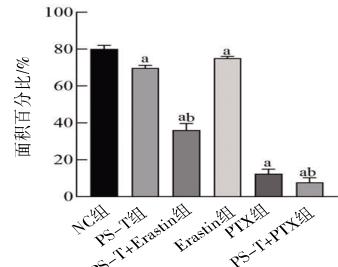


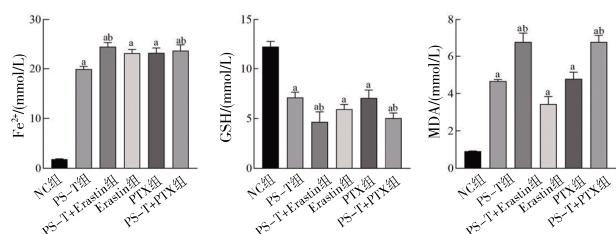
图2 MDA-MB-231细胞克隆情况



注:与NC组比较, $^aP<0.05$;与PS-T组比较, $^bP<0.05$ 。

图3 PS-T对MDA-MB-231细胞克隆的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

2.3 PS-T对MDA-MB-231细胞Fe²⁺、MDA和GSH含量的影响 与NC组比较,PS-T组、PS-T+Erastin组、Erastin组、PTX组和PS-T+PTX组Fe²⁺和MDA的含量增加,GSH含量减少($P<0.05$);与PS-T组比较,PS-T+Erastin组和PS-T+PTX组Fe²⁺和MDA含量显著增加,GSH含量显著减少($P<0.05$)。(见图4)



注:与NC组比较, $^aP<0.05$;与PS-T组比较, $^bP<0.05$ 。

图4 PS-T对MDA-MB-231细胞Fe²⁺、GSH和MDA含量的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

2.4 PS-T对MDA-MB-231细胞ROS的影响 与NC组比较,PS-T组、PS-T+Erastin组、Erastin组、PTX组和PS-T+PTX组的绿荧光增强,ROS水平增加($P<0.05$);与PS-T组比较,PS-T+Erastin组和PS-T+PTX组的ROS水平显著增加($P<0.05$)。(见图5~6)表明槐耳多糖可以造成MDA-MB-231细胞的氧化损伤,促进脂质过氧化,细胞内氧化还原失衡,导致铁死亡。

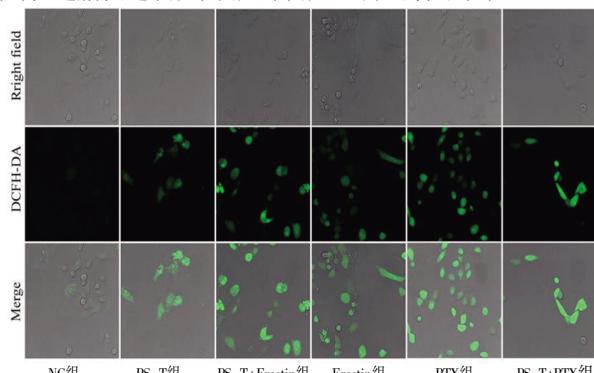
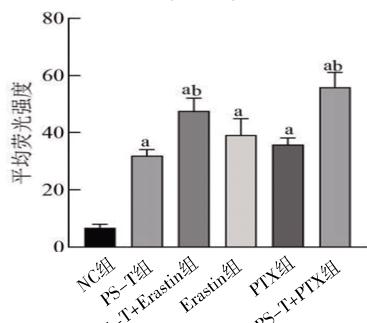


图5 PS-T对MDA-MB-231细胞ROS影响的荧光图

($\times 200$)



注:与NC组比较,^a $P<0.05$;与PS-T组比较,^b $P<0.05$ 。

图6 P-T对MDA-MB-231细胞ROS的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

2.5 PS-T对线粒体膜电位的影响 为了评估槐耳多糖是否会引起乳腺癌细胞的线粒体膜电位的降低,从而诱发铁死亡,采用流式细胞仪检测上述各组乳腺癌MDA-MB-231细胞的线粒体膜电位,若线粒体膜电位由红色荧光转变为绿色荧光,表示线粒体膜电位降低。结果显示:与NC组比较,PS-T组、PS-T+Erastin组、Erastin组、PTX组和PS-T+PTX组的膜电位降低($P<0.05$);与PS-T组比较,PS-T+Erastin组和PS-T+PTX组的线粒体膜电位降低($P<0.05$)。(见图7~8)表明槐耳多糖可以破坏MDA-MB-231细胞的线粒体功能。

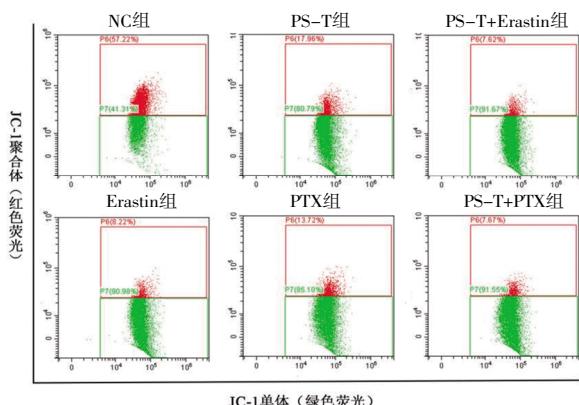
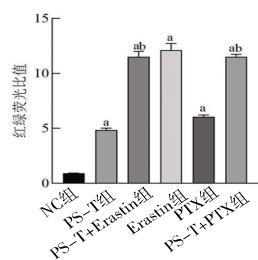


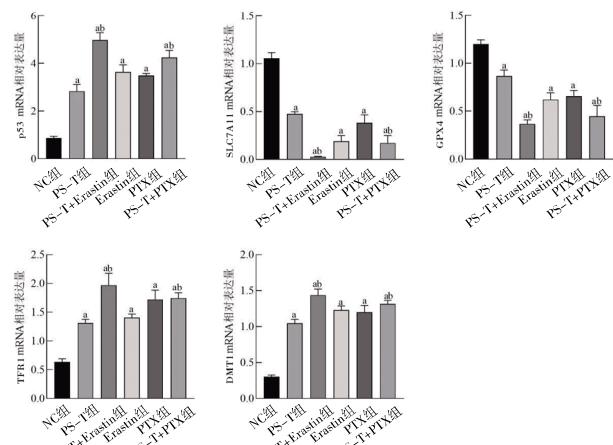
图7 PS-T对MDA-MB-231细胞线粒体膜电位影响的流式图



注:与NC组比较,^a $P<0.05$;与PS-T组比较,^b $P<0.05$ 。

图8 PS-T对MDA-MB-231细胞线粒体膜电位的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

2.6 PS-T对MDA-MB-231细胞铁死亡相关mRNA表达水平的影响 与NC组比较,PS-T组、PS-T+Erastin组、Erastin组、PTX组和PS-T+PTX组p53 mRNA、TFR1 mRNA和DMT1 mRNA表达水平升高,SLC7A11 mRNA和GPX4 mRNA表达水平降低($P<0.05$);与PS-T组比较,PS-T+Erastin组和PS-T+PTX组p53 mRNA、TFR1 mRNA和DMT1 mRNA表达水平显著升高,SLC7A11 mRNA和GPX4 mRNA表达水平则显著降低($P<0.05$)。(见图9)



注:与NC组比较,^a $P<0.05$;与PS-T组比较,^b $P<0.05$ 。

图9 PS-T对MDA-MB-231细胞内p53 mRNA、SLC7A11 mRNA、GPX4 mRNA、TFR1 mRNA和DMT1 mRNA表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

3 讨论

TNBC作为乳腺癌的一个分子亚型,占比为15%~20%,是最具侵袭性的一类乳腺癌^[15]。因其缺乏三种受体,即雌激素受体(estrogen receptor,ER)、孕激素受体(progesterone receptor,PR)和人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2,HER2)^[15~16],导致其对化疗、放疗和靶向治疗等常规治疗并不敏感,且易出现复发和转移、化学耐药以及预后不良等情况。因此,TNBC的治疗一直以来都是医学界关注的热点与攻克的难点所在,研发新型治疗药物更是刻不容缓。

槐耳是一种生长在槐树上的真菌,具有抗炎、免疫调节、抗肿瘤的作用^[17]。PS-T是槐耳最有效的抗癌活性成分,目前已被用于各类癌症的治疗。研究^[18]表明,PS-T能抑制宫颈癌细胞的增殖,其机制可能与SPHK1/S1P/S1PR3信号通路有关。另外,研究^[19]发现,PS-T可能通过Akt/GSK3β/Snail信号轴抑制胰腺癌细胞增殖和促进凋亡。YANG L等^[20]发现槐耳提取物可以通过NF-κB/IκBα通路抑制MDA-MB-231细胞的生长,诱导细胞

周期停滞在G₀/G₁期，并促进凋亡。HU B等^[21]发现PS-T可以灭活ERα-36信号通路抑制MDA-MB-231细胞的增殖，影响肿瘤细胞的生物学行为。在本研究中，CCK-8实验和平板克隆实验显示，PS-T可以显著地抑制MDA-MB-231细胞的活性，进而抑制癌细胞的克隆形成，其机制可能与铁死亡有关。

铁死亡的概念首次由DIXON S J等^[12]于2012年提出，主要描述由铁诱导剂(Erastin)触发的一种独特形式的细胞死亡。据报道^[22]，Erastin可以选择性靶向MDA-MB-231细胞并有效诱导TNBC细胞中的铁死亡。从本质上来说，铁死亡过程涉及不稳定铁离子积累、脂质过氧化和抗氧化系统失衡^[23]。其中不稳定铁离子积累是铁死亡的关键因素。铁是脂质过氧化的催化剂，细胞内的铁主要来自转铁蛋白受体介导的铁摄取、铁蛋白释放等过程。有研究发现，细胞外Fe³⁺可以通过转铁蛋白受体1(transferrin receptor 1,TFR1)内吞转运至细胞内后变成Fe²⁺，然后在二价金属转运蛋白(divalent metal transporter 1,DMT1)的作用下进入不稳定铁池^[24]。过多的铁随即通过芬顿反应(Fe²⁺+H₂O₂-Fe³⁺+OH⁻+OH⁻)产生羟基自由基，引起氧化应激反应，产生大量的ROS，从而促进脂质过氧化^[25]。本研究将Erastin作为正向调节剂，PTX作为阳性对照。结果表明PS-T可以增加MDA-MB-231细胞内的铁含量，并上调TFR1及DMT1的mRNA水平，说明PS-T可以促进癌细胞内不稳定铁离子的积累，而Erastin可以起协同作用。

另一方面，脂质过氧化是铁死亡的主要标志。当细胞处于某些氧化应激环境下，ROS大量产生，使得细胞膜和细胞器膜上的多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid,PUFA)过氧反应失控，形成脂质过氧化物。脂质过氧化物不稳定，会裂解形成终产物MDA，产生细胞毒性，进而诱发铁死亡^[26]。此外，PTX作为TNBC的一线化疗药，会增加细胞内ROS水平，从而触发癌细胞铁死亡^[27]。本研结果显示PS-T可以促进MDA-MB-231细胞的ROS水平和MDA含量的增加，并与PTX的作用相似，PS-T+PTX比PS-T的效果更显著。

最后，抗氧化系统的失衡是铁死亡中的重要一环。生理条件下，胱氨酸/谷氨酸逆向转运体系统Xc-(cystine/glutamate antiporter system Xc-)–GSH–谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase 4,GPX4)维持细胞的抗氧化稳态。其中，溶质载体家族7成员11(solute carrier family 7 member 11,SLC7A11)是Xc-系统的成员，是合成GSH的一个关键前体。抑制SLC7A11可以减少细胞内的胱氨酸，最终导致GSH合成减少^[28]。GPX4是参与减少脂质过氧化的核心蛋白质。GSH作为GPX4的辅助因子被抑制，导致GPX4的减少，细胞清除脂质过氧化的能力降低，导致ROS的过度积累，从而诱发铁死亡的发生^[29]。过度堆积的ROS又促进线粒体膜电位崩解，线粒体内细胞色素C(cytochrome C,Cyt C)释放增加，线粒体凋亡通路被激活，p53蛋白表达上调^[30]。活化后的p53可能通过募集到SLC7A11启动子区域，阻断SLC7A11的转录，抑制Xc-系统胱氨酸的摄取，抑制GSH合成，下调GPX4，触发铁死亡^[16]。此外，有研究发现，槐耳可以上调p53的表达^[31]，导致下游靶基因SLC7A11和GPX4接连被激活，而且p53/SLC7A11/GPX4信号轴已被证实参与TNBC的铁死亡过程^[16]。由此形成了一个正反馈调节，进一步加速了铁死亡的进程。本研究结果显示，PS-T

可以抑制MDA-MB-231细胞GSH含量降低，下调SLC7A11 mRNA和GPX4 mRNA水平，上调p53 mRNA水平，并降低线粒体膜电位，说明PS-T可以使抗氧化系统失衡，同时降低线粒体膜电位。该机制可能与p53/SLC7A11/GPX4信号轴有关。

本研究结果表明，PS-T可能通过p53/SLC7A11/GPX4通路抑制MDA-MB-231细胞的增殖，从而激发MDA-MB-231细胞内不稳定铁离子的过度积累，同时促进脂质过氧化，使抗氧化系统失衡，线粒体膜电位降低，进而诱导铁死亡的发生。其中铁诱导剂可以起协同作用，中西结合比单用效果更显著。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, GIAQUINTO A N, JEMAL A. Cancer statistics, 2024[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(1):12-49.
- [2] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3):229-263.
- [3] LI H W, YOU J, WEI Y F, et al. Huaier improves the efficacy of anti-PD-L1 Ab in the treatment of hepatocellular carcinoma by regulating tumor immune microenvironment[J]. Phytomedicine, 2024, 123:155189.
- [4] WU T, LIU S, CHEN W, et al. Huaier suppresses cell viability, migration and invasion in human non-small cell lung cancer via lncRNA DLEU2/miR-212-5p/ELF3 axis[J]. Int J Med Sci, 2024, 21(2):319-331.
- [5] FENG Q, HUO M, YAN X, et al. Huaier regulates oxaliplatin resistance in colorectal cancer by regulating autophagy and inhibiting the Wnt/β-catenin signalling pathway[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2024, 29(1):15.
- [6] LUO K F, ZHOU L X, WU Z W, et al. Molecular mechanisms and therapeutic applications of Huaier in breast cancer treatment[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1269096.
- [7] LI C, WANG X L, XING L Y, et al. Huaier-induced suppression of cancer-associated fibroblasts confers immunotherapeutic sensitivity in triple-negative breast cancer[J]. Phytomedicine, 2024, 135:156051.
- [8] TIAN Y, WU J, ZENG L J, et al. Huaier polysaccharides suppress triple-negative breast cancer metastasis and epithelial-mesenchymal transition by inducing autophagic degradation of Snail[J]. Cell Biosci, 2021, 11(1): 170.
- [9] LI C, WANG X L, CHEN T, et al. Huaier induces immunogenic cell death via CircCLASP1/PKR/eIF2α signaling pathway in triple negative breast cancer [J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10:913824.
- [10] 殷雨来,赵春智,张嘉澍,等.槐耳颗粒联合免疫治疗用于晚期三阴性乳腺癌解救治疗的临床分析[J].中医肿瘤学杂志,2024,6(2):33-41.
- [11] 陆家凤,张惟郁,何乐,等.槐耳颗粒辅助治疗乳腺癌的疗

- 效及安全性分析[J].浙江中医药大学学报,2022,46(6):677-685.
- [12] 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.
- [13] HUANG G Q, CAI Y W, REN M H, et al. Salidroside sensitizes Triple-negative breast cancer to ferroptosis by SCD1-mediated lipogenesis and NCOA4-mediated ferritinophagy[J]. J Adv Res,2024:S2090-S1232.
- [14] YE S Y, HU X Y, SUN S W, et al. Oridonin promotes RSL3-induced ferroptosis in breast cancer cells by regulating the oxidative stress signaling pathway JNK/Nrf2/HO-1[J]. Eur J Pharmacol,2024,974:176620.
- [15] ZHOU T J, ZHANG M M, LIU D M, et al. Glutathione depletion and dihydroorotate dehydrogenase inhibition actuated ferroptosis-augment to surmount triple-negative breast cancer[J]. Biomaterials,2024,305:122447.
- [16] LEI M, ZHANG Y L, HUANG F Y, et al. Gankyrin inhibits ferroptosis through the p53/SLC7A11/GPX4 axis in triple-negative breast cancer cells[J]. Sci Rep,2023,13:21916.
- [17] JI H, MA W, ZHENG A Y, et al. The role and molecular mechanism of Trametes Robiniophila Murr (Huaiher) in tumor therapy[J]. J Ethnopharmacol,2024,334:118578.
- [18] 李丽品,马素艳,安入征.槐耳多糖调节SPHK1/S1P/S1PR3信号通路对宫颈癌细胞恶性生物学行为的影响[J].河北医学,2024,30(3):411-416.
- [19] 雷蕾,高彦茹,蔡洲,等.槐耳多糖通过抑制AKT/GSK3β-Snail信号通路抑制胰腺癌细胞增殖和上皮间质转化[J].现代肿瘤医学,2023,31(24):4536-4541.
- [20] YANG L, SONG Z, WANG X, et al. Huaier extract enhances the treatment efficacy of paclitaxel in breast cancer cells via the NF-κB/IκBα pathway[J]. Oncol Rep,2017,38(6):3455-3464.
- [21] HU B, YAN W, WANG M, et al. Huaier polysaccharide inhibits the stem-like characteristics of ERα-36high triple negative breast cancer cells via inactivation of the ERα-36 signaling pathway[J]. Int J Biol Sci,2019,15(7):1358-1367.
- [22] DING Y, CHEN X, LIU C, et al. Identification of a small molecule as inducer of ferroptosis and apoptosis through ubiquitination of GPX4 in triple negative breast cancer cells[J]. J Hematol Oncol,2021,14(1):19.
- [23] ZHOU Q, MENG Y, LI D, et al. Ferroptosis in cancer: From molecular mechanisms to therapeutic strategies[J]. Signal Transduct Target Ther,2024,9(1):55.
- [24] SUN Y, REN Y, SONG L Y, et al. Targeting iron-metabolism: A potential therapeutic strategy for pulmonary fibrosis[J]. Biomed Pharmacother,2024,172:116270.
- [25] LEI G, ZHUANG L, GAN B Y. The roles of ferroptosis in cancer: Tumor suppression, tumor microenvironment, and therapeutic interventions[J]. Cancer Cell,2024,42(4):513-534.
- [26] XU X, XU X D, MA M Q, et al. The mechanisms of ferroptosis and its role in atherosclerosis[J]. Biomed Pharmacother,2024,171:116112.
- [27] WEN Y Y, LI K M, NI M N, et al. Dendritic polylysine with paclitaxel and triptolide codelivery for enhanced cancer ferroptosis through the accumulation of ROS[J]. ACS Appl Mater Interfaces,2024,16(16):14.
- [28] ZHANG H, PAN J N, HUANG S Y, et al. Hydrogen sulfide protects cardiomyocytes from doxorubicin-induced ferroptosis through the SLC7A11/GSH/GPx4 pathway by Keap1 S-sulfhydration and Nrf2 activation[J]. Redox Biol,2024,70:103066.
- [29] ZHANG W, LIU Y, LIAO Y, et al. GPX4, ferroptosis, and diseases[J]. Biomed Pharmacother,2024,174:116512.
- [30] 张超男,李洪霖,刘素彤,等.虎七散诱导食管癌EC9706细胞线粒体凋亡和铁死亡的研究[J].中医药理与临床,2024,40(8):19-28.
- [31] QIN X, CHEN X, WANG F, et al. Huaier inhibits autophagy and promotes apoptosis in T-cell acute lymphoblastic leukemia by down-regulating SIRT1[J]. Heliyon,2024,10(17):e37313.

(收稿日期:2024-12-17 编辑:罗英姣)

(上接第40页)南京医科大学学报(自然科学版),2023,43(4):459-467.

- [41] BETTELLI E, OUKKA M, KUCHROO V K. T(H)-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity[J]. Nat Immunol,2007,8(4):345-350.
- [42] VELDHOEN M, HOCKING R J, ATKINS C J, et al. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells[J]. Immunity,2006,24(2):179-189.
- [43] 程浩,李雪飞,赵文鹏,等.ROR α 和ROR γ t特性及介导Th17

细胞分化研究新进展[J/OL].中华临床医师杂志(电子版),2015,9(8):1413-1417.

- [44] 赵启航,梁瑞,李丹,等.Foxp3+调节性T细胞分化发育及其功能稳定性研究进展[J].南京医科大学学报(自然科学版),2017,37(1):1-9,80.
- [45] 韩玉生,李东东,侯志涛,等.丹溪痛风胶囊对胶原诱导性关节炎大鼠ROR γ t和Foxp3蛋白表达的影响[J].实用医药杂志,2018,35(9):818-820.

(收稿日期:2024-12-27 编辑:刘国华)