



# 中国药理通讯

CHINESE PHARMACOLOGIST

2024 年 第四十一卷 增刊 1

内部资料 免费交流

中国药理学会

成都泰盟软件有限公司是一家民营高科技企业，注册资本2000万，目前拥有净资产数千万元，员工200多人。公司自1998年成立以来一直致力于BL系列生物信号采集处理系统、药理学研究仪器、神经电生理仪器、虚拟实验室软件等产品的研制、生产、销售和服务。目前公司已取得国家高新技术企业认证、ISO9000质量体系认证、CE认证等，是多家医学和生命科学院校创新实习基地。

## 现代化医学教学与研究实验室 整体解决方案



## HPS-100人体生理 实验系统

重点推荐

该系统界面设计精美，  
人体实验项目丰富多彩

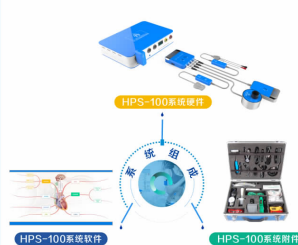
拥有了该系统，相当于拥有了  
大量的临床设备

该系统的引入可以大幅度增加  
学生学习生理知识的兴趣

### 人体生理实验项目

- 人体心率变异分析实验
- 心音听诊和心电图描记
- 呼吸运动调节因素
- 潜水反射对血压、心率、血氧的影响
- 人体基础代谢的测定运动生理实验
- 人体血压测定
- 反射和反应时间
- 肺功能检测
- 心电图的描计及运动负荷实验
- 脑机接口
- 肌电图
- 眼动电
- 感觉实验
- 测谎实验

### 系统组成



### 佩戴效果



### 软件界面





# 目 录



## 中国药理学学会化疗药理专业委员会第十九届学术会议论文摘要

DHA27 增强庆大霉素抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 的作用

|                                              |                 |
|----------------------------------------------|-----------------|
| 及其分子机制研究 .....                               | 陈学敏 周红 ( 1 )    |
| 人参皂苷 Re 促进毛囊发育的作用及机制研究 .....                 | 杜番攀 李征 ( 2 )    |
| 白念珠菌胞外 Hsp90 通过触发巨噬细胞焦亡加重侵袭性真菌感染 .....       | 方婷 鹿辉等 ( 3 )    |
| DFU 中的细胞衰老及靶向治疗的方法 .....                     | 韩莹莹 ( 4 )       |
| KY216—Tubulin 复合物通过捕捉 VASH2 抑制非小细胞肺癌转移 ...   | 何小雨 夏元铮 ( 4 )   |
| PFKP 蛋白乳酸化在食管鳞癌细胞增殖和迁移侵袭中的作用研究 ...           | 何晓彤 刘坦萌等 ( 5 )  |
| 通过抑制溶酶体代谢介导的 GARP/TGF— $\beta$ 1 复合物特异性耗竭调节性 |                 |
| T 细胞抑制乳腺癌转移 .....                            | 胡彬 曹怡等 ( 6 )    |
| 新型 FAK 抑制剂 2321 抗甲状腺癌药理机制研究 .....            | 贾美琪 刘秋阁等 ( 7 )  |
| 基于 Nrf2 探究金钗石斛生物碱抗肝纤维化的作用及其机制 .....          | 蒋勇炫 吴芹 ( 8 )    |
| NR3C2 在转移性结直肠癌中的作用机制探索 .....                 | 李奉 万星等 ( 8 )    |
| 靶向 Erg11 和 Ncp1 相互作用的抗真菌药物研究 .....           | 李婉倩 鹿辉等 ( 9 )   |
| 青蒿琥酯通过抑制 TLR4/TRAF6/Beclin—1 信号途径介导的自噬发挥     |                 |
| 治疗急性胰腺炎作用的机制研究 .....                         | 刘丹 刘超等 ( 10 )   |
| 新型 LSD1 抑制剂 1072 对急性髓系白血病细胞的机制研究 .....       | 刘秋阁 贾美琪等 ( 11 ) |
| 食管鳞癌细胞 FTH1 经外泌体途径传递并调控受体肿瘤细胞铁死亡的            |                 |
| 机制研究 .....                                   | 刘坦萌 何晓彤等 ( 12 ) |
| N—亚油酰酪氨酸诱导铁死亡抗非小细胞肺癌 .....                   | 刘远亭 刘沙 ( 13 )   |
| 乐伐替尼抑制肝癌中 UGT1A1 表达的分子机制研究 .....             | 刘壮壮 李盈莹等 ( 13 ) |
| 青蒿琥酯衍生物 DHA27 联合阿莫西林的抗菌增敏作用及机制研究             |                 |
| .....                                        | 龙熟娟 黄雅思等 ( 14 ) |
| 氮唑类抗真菌药物增效剂的研发及机制研究 .....                    | 鹿辉 姜远英 ( 15 )   |
| 藏药乌奴龙胆对急性肝损伤的保护作用及机制研究 .....                 | 吕雅心 吴思琪等 ( 16 ) |

|                                                                                |               |
|--------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 高通量浓度梯度的肝类器官芯片的构建及药物筛选的研究 .....                                                | 彭青 李诗等 (17)   |
| 糖酵解介导的凋亡在阿霉素心脏毒性和乳腺癌治疗中的作用研究 .....                                             | 黄嘉敏 乔若琪等 (17) |
| hnRNP C 驱动 <i>pre-MCTP2</i> 环化剪接诱发新生多肽 circMCTP2-166aa<br>生成调控卵巢癌细胞干性新模式 ..... | 孙晓雨 徐苏影等 (21) |
| 甘草及活性成分对顺铂致肾损伤的保护作用及机制 .....                                                   | 唐山珊 曼琼等 (22)  |
| 虫草素缓解非酒精性脂肪肝的机制探索 .....                                                        | 田海英 孙晓东 (23)  |
| MyD88 诱饵肽激活非典型自噬保护细菌脓毒症小鼠的作用和机制研究 .....                                        | 王攀 朱婷等 (24)   |
| 基于网络药理学探讨墨旱莲石油醚提取物对化疗性脱发的作用及机制 .....                                           | 王无忌 李晶洁 (24)  |
| LSD1/Tubulin 双靶点抑制剂 1949 抗胃癌机制研究 .....                                         | 王子月 伍忌等 (26)  |
| 藏药仁青常觉抑制乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用及机制研究 .....                                            | 吴思琪 吕雅心等 (27) |
| 新型芳酰胺类微管蛋白抑制剂 1121 的抗肝癌机制研究 .....                                              | 伍忌 王子月等 (28)  |
| 毗罗昔康对糖尿病溃疡的治疗作用及机制探索 .....                                                     | 谢腾 (29)       |
| AT 诱导乳腺癌细胞向脂肪细胞转分化的作用研究 .....                                                  | 张静 潘燕 (30)    |
| 黄芩苷干预 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路促进毛发再生的作用及机制研究 .....                             | 张仕倩 李晶洁等 (31) |
| 转录因子 MYCN 激活 BMI1 转录调控人卵巢癌细胞氨甲喋呤耐药进程 .....                                     | 张莹 (32)       |
| 阿替利珠单抗联合贝伐珠单抗在治疗晚期肝癌中的应用 .....                                                 | 张珍珍 刘吉莉等 (32) |
| 奥替溴铵通过阻碍麦角甾醇质膜定位并诱导白念珠菌毒性自噬发挥<br>抗真菌活性 .....                                   | 甄诚 鹿辉等 (33)   |
| 青蒿琥酯激活腺泡细胞酶噬治疗急性胰腺炎的机制研究 .....                                                 | 朱婷 王攀等 (35)   |

## 《中国药理通讯》编委会

**主 编：**杨宝学

**顾 问：**楼雅卿 林志彬 库宝善 李学军

**编 委：**(按姓氏笔划为序)

丁 健 马 璟 王广基 王育琴 王春波 王晓良 毛新民 左建平 石京山  
司端运 毕明刚 吕圭源 吕延杰 朱晓新 朱 焰 乔海灵 刘昌孝 刘俊田  
许建华 苏定冯 杜冠华 李 林 李 波 李学军 李晓辉 李 锦 杨宝学  
杨宝峰 吴春福 吴 镭 余细勇 汪 晖 张丹参 张 兰 张永祥 张永鹤  
张岫美 张相林 陈乃宏 陈 立 陈 忠 陈建国 易 凡 周文霞 周 红  
周宏灏 郑青山 赵秀丽 胡长平 胡 刚 姜建石 贺 林 秦雪梅 耿美玉  
卿 晨 高 华 陶 亮 黄 民 黄志力 常福厚 崔一民 斯拉甫·艾 白  
蒋建东 喻 田 程能能 傅风华 曾 苏 缪朝玉 薛 明 魏 伟 魏敏杰

**责任编辑：**潘 燕 底 畅 黄雅思

**责任编委：**杨宝学 周 红

欢迎关注“药理通讯”微信公众号，获得更多资讯！



微信搜一搜



药理通讯







## 中国药理学会化疗药理专业委员会第十九届学术会议论文摘要

### DHA27 增强庆大霉素抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 的作用及其分子机制研究

陈学敏, 周红\*

遵义医科大学基础教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室, 贵州 遵义, 563000

目的: 基于前期的工作基础, 本课题组设计合成了一系列青蒿素衍生物, 对其中 DHA27 与多种抗菌药物联合使用对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 抗菌增敏活性进行测定, 明确与 DHA27 发挥最佳抗菌增敏作用的药物配伍, 并对其抗菌增敏作用机制进行研究, 为逆转细菌的多药耐药提供新思路。

方法: 采用微孔二倍稀释法测定 DHA27 和临床上用于治疗金黄色葡萄球菌有效的药物 ( $\beta$ -内酰胺类、糖肽类、恶唑烷酮类、大环内酯类、林可霉素、氟喹诺酮类、氨基糖苷类) 对 MRSA 标准菌株与临床菌株的抗菌活性, 根据 DHA27 和不同抗菌药物对 MRSA 的 MIC 值, 采用棋盘法测定 DHA27 与多种抗菌药物联合使用的协同抑菌指数, 筛选出抗菌增敏作用最佳的药物配伍, 并基于细菌的耐药机制研究 DHA27 发挥抗菌增敏作用的分子机制。

结果: 体外实验发现, DHA27 对 MRSA 无直接抗菌作用, 但是 DHA27 与庆大霉素、阿莫西林联合使用时, 有一定的抗菌增敏作用。体内药效学研究发现, DHA27 联合庆大霉素对 MRSA 攻击小鼠脓毒症模型具有一定的治疗作用, 可显著降低小鼠血液和肺脏中细菌载荷量, 降低小鼠血清、肺脏、脾脏中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平, 并减轻肺脏组织肺泡和肺间质水肿、肺毛细血管出血、肺泡塌陷等的损伤。在机制相关研究发现, DHA27 联合庆大霉素破坏细菌形态结构, DHA27 增加庆大霉素在菌体内含量, 在检测相关耐药基因中发现, DHA27 联合庆大霉素未明显影响  $\beta$ -内酰胺酶 *blaZ* 基因、编码 PBP2a 的 *mecA* 基因和 *femA*、*femB* 基因、氨基糖苷类修饰酶基因 *aac* (6') /*aph* (2''), *aph* (3') - III mRNA 的表达, 但对外排泵基因 *NorA*、*NorB*、*NorC*、*SepA*、*MepA*、*mdeA*、*mepR*、*mgrA* 有一定影响; 重要的是, 随着 FICI 的降低 *NorA*、*NorC* 基因表达显著降低并呈显著的正相关, 其发挥抗菌增敏的机制可能与抑制 MRSA 中外排泵 mRNA 的表达相关。

结论: DHA27 本身无显著的直接抗菌作用, 但与庆大霉素联合对 MRSA 具有显著的协同作用, 该作用与 DHA27 降低外排泵 *NorA*、*NorC* 基因表达有关。

关键词: 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; DHA27; 庆大霉素; 抗菌增敏作用

## 人参皂苷 Re 促进毛囊发育的作用及机制研究

杜番攀, 李征

遵义医科大学基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室,

贵州 遵义, 563000

目的: 探讨人参皂苷 Re (ginsenoside Re, Re) 促进 C57BL/6J 小鼠毛囊发育的作用及其可能的作用机制, 并进一步研究 Re 是否能够抑制过氧化氢 (hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ ) 诱导人永生角质形成细胞 (human immortalized keratinocytes, HaCaT) 的细胞损伤及其作用机制。

方法: 1、动物实验: C57BL/6J 小鼠脱毛后随机分为 4 组: Control 组、2%米诺地尔给药组 (2% Minoxidil)、Re 低剂量给药组 (Re-L) 和 Re 高剂量给药组 (Re-H), 背部皮肤涂抹给药 14 天, 观察小鼠背部皮肤颜色变化并拍照记录毛发生长的情况。苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, H&E) 染色观察 Re 对小鼠毛囊发育的影响。利用网络药理学分析预测 Re 与毛发生长相关的潜在靶点及可能的作用途径。通过蛋白免疫印迹实验 (Western Blotting, WB) 检测 Re 促毛发生长可能作用靶点的蛋白表达变化。2、细胞实验: 以人永生角质形成细胞 (human immortalized keratinocytes, HaCaT) 作为研究对象, 利用 CCK-8 法分别检测  $H_2O_2$  不同浓度、Re 不同浓度及 Re 预处理对  $H_2O_2$  给药后 HaCaT 细胞活力的影响。通过荧光显微镜观察  $H_2O_2$  给药后 HaCaT 细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平并采用生化试剂盒检测  $H_2O_2$  给药后细胞中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 的酶活力及丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 的含量。通过 WB 实验检测 Re 预处理对  $H_2O_2$  给药后 HaCaT 细胞中 PI3K/Akt 信号通路及 Nrf2 信号通路中蛋白表达的影响。

结果: 1、动物实验: 小鼠背部皮肤拍照结果显示, 与 Control 组相比, Re 给药组小鼠背部皮肤提前变黑, 即小鼠毛发更早进入生长期。H&E 染色结果显示, 与 Control 组相比, 低、高剂量 Re 给药组显著增加了毛囊数量, 毛囊长度及毛囊直径, 作用效果与 2% Minoxidil 组相似; Re 给药组增加了全层皮肤厚度, 但无显著性差异。网络药理学分析结果显示 Re 可能通过调控 PI3K/Akt/Nrf2 抗氧化信号通路促进毛发生长。WB 结果显示, 与 Control 组相比, Re 给药组小鼠皮肤组织中磷酸化 PI3K (Phosphorylated PI3K, p-PI3K) 及磷酸化 Akt (Phosphorylated Akt, p-Akt) 蛋白表达增加; Re 促进 Nrf2 的核转位, 同时提高了 Nrf2 下游的 HO-1, SLC7A11 和 GPX4 的蛋白表达。2、细胞实验:  $H_2O_2$  浓度高于  $600 \mu M$  会对 HaCaT 造成显著的细胞损伤; Re 在  $5-100 \mu M$  的浓度范围内对 HaCaT 细胞活力无影响; Re 预处理可缓解  $H_2O_2$  诱导的 HaCaT 细胞损伤。与  $H_2O_2$  组相比, Re 预处理能提高细胞中 SOD、CAT 和 GSH-Px 等内源性抗氧化酶的活性, 降低 ROS 和 MDA 的水平。WB 结果显示, 与  $H_2O_2$  组相比, Re 预处理能提高 HaCaT 细胞中 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白表达, 促进 Nrf2 的核转位, 并提高 Nrf2 下游

抗氧化因子 HO-1, SLC7A11 和 GPX4 的蛋白表达。

结论: Re 通过调控 PI3K/Akt/Nrf2 抗氧化途径促进 C57BL/6J 小鼠毛囊发育和毛发生长; Re 还能提高 HaCaT 细胞中 SOD、CAT 和 GSH-Px 等内源性抗氧化酶的活性, 降低 ROS 和 MDA 的水平, 从而减轻 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 HaCaT 细胞氧化损伤。

关键词: 人参皂苷 Re; 毛囊发育; 毛发生长; 氧化应激; 人永生化角质形成细胞

## 白念珠菌胞外 Hsp90 通过触发巨噬细胞焦亡加重侵袭性真菌感染

方婷<sup>1</sup>, 鹿辉<sup>1\*</sup>, 姜远英<sup>1\*</sup>

1. 同济大学医学院附属第十人民医院, 上海, 200072

目的: 白念珠菌 Hsp90 是治疗侵袭性真菌感染的潜在靶点, 已知 Hsp90 可参与白念珠菌形态发生, 耐药, 生物膜等毒力, 由于 Hsp90 可分泌至胞外, 为了开发高效低毒 Hsp90 抗体用于治疗侵袭性真菌感染, 我们迫切需要研究并阐明胞外 Hsp90 毒力作用和机制。

方法: 我们首先通过原核生物系统表达重组白念珠菌 Hsp90 蛋白 (CaHsp90), 接着将 CaHsp90 和白念珠菌尾静脉注射至小鼠体内, 观察仅注射白念珠菌组与注射白念珠菌和 CaHsp90 组生存率, 检测肾脏和肝脏载菌量, 并对小鼠肾脏进行 PAS, H&E 和 TUNEL 染色; 其次我们利用 WB 检测培养基中 CaHsp90 来确认 CaHsp90 的外泌情况和体内免疫组化实验表明 CaHsp90 的外泌; 最后在细胞水平上我们以巨噬细胞为研究对象, 利用流式细胞术, LDH 证明 CaHsp90 对巨噬细胞所产生的损伤, 并使用 qRT-PCR, WB 证明 CaHsp90 激活巨噬细胞 NF- $\kappa$ B 通路, 导致巨噬细胞发生焦亡。

结果: 与仅注射白念珠菌组小鼠相比, 尾静脉注射 2 mg/kg CaHsp90 和白念珠菌组小鼠平均生存时长降低 58%, 肾脏和肝脏载菌量分别增加三倍和两倍, PAS 染色显示小鼠肾脏中白念珠菌的定植增加, 而且伴随大量白念珠菌菌丝的生长, 同样, HE 染色显示小鼠肾脏炎症细胞聚集增加, 炎症加重, TUNEL 染色显示 TUNEL 阳性细胞增加, 肾脏中细胞发生死亡, 说明 CaHsp90 增加白念珠菌在体内的毒力; 体外 WB 实验表明 CaHsp90 在极低浓度 AmB (0.015625  $\mu$ g/mL) 处理后, 即可从白念珠菌细胞内释放到培养基中, 同时体内免疫组化实验也表明小鼠肾脏中大量外泌 CaHsp90 积聚在定植的白念珠菌周围; 细胞水平上, LDH 和流式细胞术表明随着 CaHsp90 浓度增加, 其对巨噬细胞损伤也增加, qRT-PCR 和 WB 结果表明 CaHsp90 增加了巨噬细胞 IKK $\gamma$ , IKB $\alpha$ , p65, p50, NLRP3, IL-1 $\beta$ , IL-18 蛋白转录水平和 NLRP3 蛋白表达水平, 说明 CaHsp90 激活了 NF- $\kappa$ B 通路, 最后 WB 实验表明 CaHsp90 与 Nigericin 使巨噬细胞 Gasdermin D (GSDMD) 由全长切割为有活性的 N 端片段, 并分泌成熟

IL-1 $\beta$ , 说明 CaHsp90 触发巨噬细胞产生焦亡。

结论: 本研究表明 CaHsp90 是由白念珠菌破裂后分泌至细胞外, CaHsp90 通过激活巨噬细胞 NF- $\kappa$ B 通路, 触发巨噬细胞发生焦亡, 从而增加体内白念珠菌毒力, 最终加重侵袭性真菌感染。

关键词: 白念珠菌, Hsp90, 侵袭性真菌, 巨噬细胞, 焦亡

## DFU 中的细胞衰老及靶向治疗的方法

韩莹莹

四川大学华西基础医学与法医学院, 四川 成都, 610041, 15729930332

目前全球糖尿病患者逐年增加, 糖尿病足溃疡已成为糖尿病最常见、最严重的并发症之一, 其具有高截肢率、高致残率以及高死亡率等特点, 给患者和社会带来了沉重的负担。然而, 目前仍缺少糖尿病溃疡的有效治疗方法。

细胞衰老是细胞对内源性和外源性压力的反应, 其显著特征是细胞永久性的增殖停滞。糖尿病环境存在多种细胞衰老相关因素, 消除衰老细胞或阻止细胞衰老已被证明可减轻高血糖对慢性创面的影响。虽然衰老细胞的积累可能导致糖尿病足溃疡慢性伤口难以愈合, 但目前细胞衰老在糖尿病足溃疡慢性创面的愈合中的关键分子机制尚不清楚。本文主要综述了糖尿病中慢性伤口引起细胞衰老的分子机制, 包括通过诱导炎症、氧化应激、线粒体功能障碍等。糖尿病足溃疡创面愈合中的关键细胞如血管内皮细胞、角质形成细胞、间充质干细胞、成纤维细胞等衰老的特征, 以及对创面愈合的影响也进行了讨论。我们也总结了其中关键性的大分子的药物未来可能将用于治疗糖尿病足溃疡。

关键词: 糖尿病足溃疡; 细胞衰老

## KY216-Tubulin 复合物通过捕捉 VASH2 抑制非小细胞肺癌转移

何小雨<sup>1</sup>, 夏元铮<sup>1\*</sup>

1. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京, 210009

非小细胞肺癌 (NSCLC) 不仅是最常见的肺癌类型, 也是全球癌症死亡的主要原因之一<sup>[1]</sup>。虽然在预防、检测和治疗方面有所进展, 但转移依然是这类患者的主要致命因素<sup>[2]</sup>。因此, 深

入研究 NSCLC 的转移机制对于开发新药、提升治疗效果和改善患者预后至关重要。

微管靶向药物 (MTAs) 根据其作用部位可分为稳定剂如紫杉醇和去稳定剂如秋水仙碱及考布他汀 A-4<sup>[3,4]</sup>。这些药物都具有抑制肿瘤生长和癌症转移疗效,但其机制仍不清楚<sup>[5-7]</sup>。更重要的是,针对秋水仙碱位点的药物有助于解决患者对紫杉醇类药物的耐药性问题<sup>[8,9]</sup>。然而,由于全身毒性问题,秋水仙碱类药物尚未获得临床使用批准<sup>[10]</sup>。因此,开发低毒性且高效的秋水仙碱位点靶向药物至关重要。本文探索了由中药活性成分 DPT 衍生的靶向秋水仙碱位点的化合物 KY216 抑制 NSCLC 转移的机制。

(1) 通过应用晶体学技术,成功解析了新型微管抑制剂 KY216 与  $\alpha\beta$ -微管蛋白复合体的精细三维结构。通过分辨率为 2.74 Å 的晶体结构分析,我们揭示了 KY216 与微管间关键的相互作用位点。(2) 通过克隆形成、流式细胞术、Transwell、裸鼠异种移植瘤模型等一系列体内外实验证实了 KY216 对非小细胞肺癌 (NSCLC) 生长和转移的有效抑制作用,并且毒性较低。(3) 分子生物学方法的应用表明, KY216 能降低 VASH2 蛋白水平,并阻断 NSCLC 中的上皮间质转化 (EMT) 过程。具体来说,我们发现 KY216-微管蛋白复合物可以结合血管抑制素-2 (VASH2),增强 VASH2 与  $\alpha$ -微管蛋白的相互结合,进而阻止 VASH2 激活锌指 E 盒结合同源物 1 (ZEB1),推动  $\alpha$ -微管蛋白去酪氨酸化,最终有效抑制 EMT。研究还突出了 VASH2 C 端结构域中 Ser210 残基对于其与  $\alpha$ -微管蛋白相互作用的关键性。此外,我们还发现 KY216 能够提高 miR-429 的水平,这有助于针对 VASH2 和 ZEB1 的 mRNA 3'非翻译区 (3' UTR),从而减少 VASH2 和 ZEB1 的表达,有效抑制 NSCLC 的转移。

总之, KY216 的作用机制涉及与微管蛋白的结合,进而吸引 VASH2 并抑制 EMT 过程。此外,通过提升 miR-429 的水平, KY216 能够降低 VASH2 的表达,进一步加强对 EMT 的抑制效果。这一发现为理解 MTAs 和 VASH2 在 NSCLC 转移中的影响提供了见解,不仅揭示了 MTAs 抗肺癌转移的分子机制,还提供了潜在的肺癌患者临床治疗候选化合物及新的治疗靶点。

关键词: 非小细胞肺癌; 微管靶向药物; 血管抑制素-2;  $\alpha$ -微管蛋白去酪氨酸化; 转移

## PFKP 蛋白乳酸化在食管鳞癌细胞增殖和迁移侵袭中的作用研究

何晓彤, 刘坦萌, 范天黎\*

郑州大学基础医学院, 河南 郑州, 450001

目的: 探讨磷酸果糖激酶 PFKP 乳酸化修饰对食管鳞癌细胞的生物学功能的影响, 并进一步研究乳酸钠/乳酸介导的 PFKP 蛋白乳酸化修饰在其中的作用及机制, 旨在为食管鳞癌的综合治疗提供新的方向和思路; 方法: 利用外源性乳酸/乳酸钠模拟高乳酸环境, 利用 CCK8 细胞增

殖实验以及平板克隆形成实验来检测食管鳞癌细胞的增殖能力；利用划痕愈合实验以及 Transwell 侵袭实验检测食管鳞癌细胞的迁移侵袭能力；利用 Western blot 技术检测 ESCC 细胞总蛋白乳酸化修饰水平；利用 Co-IP 实验检测 PFKP 蛋白乳酸化修饰水平；利用试剂盒检测 PFKP 乳酸化修饰后对其酶活性的影响；最后通过生物信息学方法分析组蛋白乳酸化在食管鳞癌中表达情况及与患者生存预后的关系；结果：一定浓度（10mM）的乳酸/乳酸钠可以促进食管鳞癌细胞的增殖，迁移侵袭能力，总蛋白乳酸化修饰水平以及 PFKP 蛋白乳酸化修饰；PFKP 乳酸化修饰后增强酶活性；通过生物信息学分析发现 PFKP 蛋白在 ESCC 组织中高表达，且乳酸化修饰水平在食管鳞癌中显著上调，并且高修饰水平与患者的不良预后相关；结论：乳酸/乳酸钠显著促进食管鳞癌细胞的增殖、迁移侵袭能力以及 PFKP 蛋白乳酸化修饰，进而促进 PFKP 酶活性。

关键词：乳酸钠；乳酸；组蛋白乳酸化；食管鳞癌；侵袭迁移

## 通过抑制溶酶体代谢介导的 GARP/TGF- $\beta$ 1 复合物特异性耗竭调节性 T 细胞抑制乳腺癌转移

胡彬<sup>1#</sup>，曹怡<sup>1#</sup>，都可欣<sup>1</sup>，陈宇同<sup>1</sup>，李涛<sup>1</sup>，刘家宁<sup>1</sup>，张威<sup>1</sup>，牛涵静<sup>1</sup>，高锦华<sup>1</sup>，张中泽<sup>1</sup>，岳珂欣<sup>1</sup>，鲍国臣<sup>6</sup>，王佳佳<sup>2</sup>，王超杰<sup>3</sup>，王鹏<sup>5</sup>，邹涛涛<sup>4</sup>，谢松强<sup>1\*</sup>，马静<sup>1\*</sup>

1. 河南大学药学院，河南 开封，475004
2. 河南大学抗体药物开发技术国家地方联合工程实验室，河南 开封，475004
3. 河南大学天然药物与免疫工程重点实验室，河南 开封，475004
4. 中山大学广东省手性分子与药物发现重点实验室，广东 广州，510006
5. 南方科技大学医学院，广东 深圳，518005
6. 悉尼科技大学科学学院生物医学材料与器件研究所，澳大利亚 新南威尔士

调节性 T 细胞（Tregs）抑制先天性免疫发生并促进肿瘤进展。Treg 细胞通过生成更多活化的 TGF- $\beta$ 1 对免疫细胞发挥接触依赖性的抑制作用。然而特异性表面标志物的缺失使抑制活性 TGF- $\beta$ 1 进而特异性耗竭人 Treg 细胞成为挑战<sup>[3]</sup>。非活化形式的 TGF- $\beta$ 1 与 Treg 细胞糖蛋白 A 重复序列（GARP）结合并以未知的机制生成活化的 TGF- $\beta$ 1。在这里，我们证明了 Treg 细胞溶酶体中肿瘤坏死因子受体相关因子 3 作用蛋白 3（TRAF3IP3）参与了 TGF- $\beta$ 1 的活化机制。我们开发了一种基于萘酰亚胺-铂结构的新型抗肿瘤药物（NPt），NPt 通过抑制肿瘤 ATP 结合盒式蛋白亚家族成员 9（ABCB9）和人 Treg 细胞 TRAF3IP3 分别介导的溶酶体代谢程序进而阻断活性 GARP/TGF- $\beta$ 1 的生成用以重塑肿瘤微环境。从机制上来讲，NPt 富集于 Treg 细胞溶酶体中进而抑制 TRAF3IP3 介导的 GARP/TGF- $\beta$ 1 复合物活化用以特异性耗竭

Treg 细胞。此外，通过增加溶酶体膜蛋白 ABCB9 表达，NPt 抑制了由 CHRD 诱导的 TGF- $\beta$ 1 作用信号通路。总结来讲，我们揭示了溶酶体代谢介导的 GARP/TGF- $\beta$ 1 复合物活化机制，区别于传统的铂药治疗和现行的免疫调控疗法，NPt 可能作为一种基于耗竭 Treg 细胞的治疗策略应用于肿瘤治疗领域。

关键词：GARP/TGF- $\beta$ 1 复合物，溶酶体代谢，调节性 T 细胞，三阴性乳腺癌，铂药治疗

## 新型 FAK 抑制剂 2321 抗甲状腺癌药理机制研究

贾美琪<sup>1</sup>，刘秋阁<sup>1</sup>，王子月<sup>2</sup>，张赛扬<sup>1\*</sup>

1. 郑州大学基础医学院，河南 郑州，450001

2. 郑州大学药学院，河南 郑州，450001

目的：局部粘着斑激酶（FAK）又被称为蛋白酪氨酸激酶，其过度磷酸化与多种类型实体肿瘤的发病有关<sup>[1]</sup>。本课题组设计、合成了一系列新型 FAK 抑制剂，在三种人肿瘤细胞系（人胃癌细胞 HGC-27，人乳腺癌细胞 MCF-7，人甲状腺癌细胞 TPC-1）中选用 MTT 比色法对系列化合物进行体外抗肿瘤活性筛选，其中化合物 2321 对甲状腺癌细胞 TPC-1 的抗肿瘤活性最佳，因此对 2321 进行抗甲状腺癌药理机制研究。

方法：首先检测靶点相关蛋白和相关通路的关键蛋白，确定化合物 2321 对靶点有效果。然后采用 MTT 比色法、细胞克隆形成实验、EdU 实验、流式细胞术检测细胞周期、蛋白质免疫印迹法检测细胞周期相关蛋白探究化合物 2321 对 TPC-1 细胞增殖的影响；采用 DAPI 染色实验、 $\beta$ -半乳糖苷酶实验、流式细胞术等检测化合物 2321 是否促进细胞衰老。

结果：MTT 比色法实验显示化合物 2321 有最好的抗增殖活性，其对 TPC-1 抑制活性最好，IC<sub>50</sub> 为 118.665 nM。蛋白免疫印迹技术结果表明随着化合物 2321 浓度增加，p-FAK (Y576/577)、p-FAK (Y397)、p-FAK (Y925) 蛋白及相关通路的关键蛋白水平均下降，这说明化合物可以有效地抑制 FAK 及相关通路关键蛋白磷酸化。随着化合物浓度增加，细胞集落形成减少、EdU 阳性细胞比例降低、细胞周期被阻滞，表明化合物 2321 能显著抑制甲状腺癌细胞 TPC-1 的增殖；随着化合物 2321 作用浓度增加， $\beta$ -半乳糖苷酶水平上调，DAPI 染色可见细胞核变大、核膜内陷、染色质皱缩变亮，这说明化合物 2321 能促进 TPC-1 细胞衰老。

结论：综上所述，化合物 2321 是有效的 FAK 抑制剂，可以抑制 FAK 及相关通路关键蛋白磷酸化，具有抑制 TPC-1 增殖、促进细胞衰老的作用，因此具有良好的抗肿瘤活性。从而有望为新药开发提供研究依据与理论支持。

关键词：FAK 抑制剂；甲状腺癌；抗肿瘤

## 基于 Nrf2 探究金钗石斛生物碱抗肝纤维化的作用及其机制

蒋勇炫<sup>1</sup>, 吴芹<sup>1</sup>

1. 遵义医科大学基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室,  
贵州 遵义, 563006

目的: 通过 CCl<sub>4</sub> 诱导的小鼠建立肝纤维化模型, 探究金钗石斛生物碱 (*Dendrobium nobile* Lindl. Alkaloids, DNLA) 的抗肝纤维化作用及其潜在机制。

方法: (1) 将 C57BL/6J 雄性小鼠随机分为五组: 正常对照组、正常给药组 (DNLA 20 mg/kg)、CCl<sub>4</sub> (5 mL/kg) 模型组、CCl<sub>4</sub>+DNLA (10 mg/kg) 组、CCl<sub>4</sub>+DNLA (20 mg/kg) 组, 每组 10 只。除正常对照组和 DNLA 组外, 其余组别小鼠每周两次腹腔注射 10% CCl<sub>4</sub>, 持续 8 周。自第 5 周起, DNLA 给药组小鼠每天灌胃给予 DNLA 溶液, 连续 4 周。实验结束时采集样本, 通过生化试剂盒测定血清 ALT、AST 及肝组织中 HYP、MDA、SOD、GSH 水平, 并通过 HE 染色、Masson 染色及天狼星红染色观察肝组织病理变化, Western blot 检测  $\alpha$ -SMA、Collagen I 及 Nrf2 通路蛋白表达。(2) Nrf2<sup>-/-</sup> 小鼠和 WT 小鼠分别随机分为三组: 正常对照组、CCl<sub>4</sub> 组和 CCl<sub>4</sub>+DNLA (20 mg/kg) 组。造模及给药方法与上述实验相同, 检测肝组织中 HYP 含量, Masson 染色和天狼星红染色观察胶原纤维沉积, Western blot 检测  $\alpha$ -SMA 及 Collagen I 蛋白表达。

结果: (1) 与正常对照组相比, CCl<sub>4</sub> 组小鼠血清 ALT、AST 活性显著升高, 肝脏 HYP 含量增多, 胶原沉积增加,  $\alpha$ -SMA、Collagen I 蛋白表达上升, MDA 含量增多, SOD 和 GSH 活性下降, Nrf2 及抗氧化相关蛋白表达减少。DNLA 治疗显著改善上述指标。(2) WT 小鼠和 Nrf2<sup>-/-</sup> 小鼠 CCl<sub>4</sub> 组均出现肝纤维化特征, DNLA 治疗对 WT 小鼠肝纤维化有改善作用, 但对 Nrf2<sup>-/-</sup> 小鼠效果减弱。

结论: DNLA 显著改善 CCl<sub>4</sub> 诱导的小鼠肝纤维化, 其机制可能与激活 Nrf2 信号通路有关。

关键词: 金钗石斛生物碱; 肝纤维化; 四氯化碳; 氧化应激; Nrf2。

## NR3C2 在转移性结直肠癌中的作用机制探索

李奉<sup>1</sup>, 万星<sup>1</sup>, 周黎明<sup>1</sup>

1. 四川大学华西基础医学与法医学院药理教研室, 四川 成都, 610041

目的: 分析盐皮质激素受体基因 NR3C2 (Nuclear Receptor Subfamily 3 Group C Member 2) 在结直肠癌和癌旁组织中的表达及其与临床病理特征的关系, 同时探索 NR3C2 对结直肠癌



细胞转移、侵袭能力的影响。

方法：首先进行临床病例样本检测，运用 qRT-PCR 与 western blot 验证 NR3C2 在肿瘤与癌旁组织中的表达差异，并分析 NR3C2 的表达与临床信息之间的相关性；然后进行体外实验，利用质粒转染构建 NR3C2 过表达细胞株（HCT116、RKO），利用划痕实验、transwell 迁移与侵袭实验探索 NR3C2 过表达对结直肠癌细胞转移、侵袭的影响；同时进行分子层面的探索，利用 western blot 探索 NR3C2 过表达后 EMT 相关蛋白的改变；通过 western blot 探索 NR3C2 过表达后自噬相关蛋白的改变。

结果：通过对 239 例配对样本进行 RNA 和蛋白质的提取，qRT-PCR、western blot 检测到 NR3C2 在肿瘤组织中的表达均在低于癌旁组织，通过分析其与临床病理特征发现，NR3C2 与肿瘤分期与淋巴结转移、远端转移均成显著相关性 ( $P < 0.05$ )；划痕实验、transwell 迁移与侵袭实验证实，NR3C2 过表达后肿瘤细胞的迁移与侵袭能力减弱；在分子层面，当 NR3C2 过表达时，EMT 相关蛋白 N-cadherin、Snail、ZEB1 表达均减少；机制方面，当 NR3C2 过表达时，LC3B 的表达增加，P62 的表达减少，Beclin 1 的表达增加。

结论：NR3C2 在结直肠癌中低表达，并随着肿瘤转移程度升高其含量降低，过表达 NR3C2 将减弱肿瘤细胞的迁移与侵袭，抑制 EMT，同时，过表达 NR3C2 将增强肿瘤细胞的自噬水平。

关键词：NR3C2；结直肠癌；EMT；自噬

## 靶向 Erg11 和 Ncp1 相互作用的抗真菌药物研究

李婉倩，鹿辉\*，姜远英\*

同济大学医学院同济大学附属第十人民医院，上海，200331

目的：唑类药物治疗念珠菌病的有效性受到白念珠菌耐药性和耐受性的影响。为了解决这个问题，我们提出了新的抗真菌策略——靶向 Erg11 和 Ncp1 相互作用，以确定增强唑类抗真菌活性的化合物。

方法：我们利用膜酵母双杂交系统研究 Erg11-Ncp1 是否存在相互作用并通过片段截取寻找 Erg11 的 Ncp1 结合位点。然后在白念珠菌中构建并验证标记菌株，利用免疫共沉淀验证在白念珠菌中 Erg11-Ncp1 全长及区段的相互作用。进一步通过分子动态模拟确定 Erg11 和 Ncp1 相互作用的关键氨基酸。构建 Erg11 的 Ncp1 结合位点突变菌株并研究其生物学功能，以确定该靶点的重要性。建立阻断 Erg11-Ncp1 相互作用的化合物筛选体系，确定能增强氟康唑（FLC）抗真菌活性的化合物。最后，我们使用基因构建的 FLC 高耐受菌株感染蜡螟，以观察玫瑰树碱和 FLC 联合使用的体内药效。

结果：我们确定 Erg11—Ncp1 存在相互作用并通过片段截取寻找出 Erg11 的 Ncp1 结合位点是 A200—K251；Ncp1 的 Erg11 结合位点是 M1—L63。在白念珠菌中成功构建并验证标记菌株，利用免疫共沉淀验证了在白念珠菌中 Erg11—Ncp1 全长及区段的相互作用。利用分子动态模拟确定 Erg11（V234，F235，L238）和 Ncp1 相互作用的关键氨基酸并考察了 Erg11 中氨基酸残基 V234、F235 和 L238 对 Erg11 和 Ncp1 相互作用的重要性。白念珠菌中 Erg11—Ncp1 相互作用的破坏导致对唑类的易感性增加，部分原因是活性氧（ROS）水平升高、蛋白质氧化和内质网（ER）错误折叠，导致内质网应激。这种应激触发钙离子（Ca<sup>2+</sup>）从内质网释放，它们在线粒体中积累，线粒体功能障碍，ROS 产生增加，最终导致细胞凋亡。我们发现玫瑰树碱选择性地靶向 Ncp1，作为 Erg11—Ncp1 相互作用的抑制剂，在 FLC 耐受的白念珠菌菌株的蜡螟感染模型中增强了 FLC 的有效性。

结论：我们的研究表明。阻断 Erg11 和 Ncp1 互作用，导致内质网来源的 ROS 和错误折叠蛋白的产生增加。这会破坏正常的线粒体功能并引发白念珠菌的凋亡，从而增强唑类药物的有效性。这表明，破坏 Erg11—Ncp1 相互作用可以作为增强唑类药物抗真菌性能的有效途径。

关键词：Erg11—Ncp1 相互作用；内质网应激；线粒体功能障碍；玫瑰树碱；白念珠菌

## 青蒿琥酯通过抑制 TLR4/TRAF6/Beclin—1 信号途径介导的 自噬发挥治疗急性胰腺炎作用的机制研究

刘丹<sup>1</sup>，刘超<sup>2</sup>，邓非<sup>1</sup>，周红<sup>1</sup>

1. 遵义医科大学基础教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室，贵州 遵义，563000

2. 陆军军医大学药学院药物化学系，重庆，400016

目的：基于前期课题组工作，首先明确青蒿琥酯（AS）对急性胰腺炎（acute pancreatitis, AP）小鼠的治疗作用，其次，明确 AS 治疗急性胰腺炎的作用是否与抑制自噬有关，再次探究 AS 是否通过抑制 TLR4/TRAF6/Beclin—1 信号转导途径介导的自噬发挥抗炎作用，为明确青蒿琥酯治疗 AP 的分子机制奠定基础。

方法：使用雨蛙素联合脂多糖（lipopolysaccharide/endotoxin, LPS）腹腔注射建立 AP 小鼠模型，用 HE 染色法观察青蒿琥酯对 AP 小鼠胰腺组织病理学损伤的影响、采用碘比色法检测血清中消化酶活力的影响、ELISA 法检测前炎症细胞因子水平的影响。使用 LPS 联合 TP（trypsin, TP）诱导巨噬细胞释放前炎症细胞因子，采用 ELISA 法检测青蒿琥酯对 LPS 联合 TP 诱导巨噬细胞中前炎症细胞因子水平的影响。在明确青蒿琥酯对 AP 小鼠具有治疗作用的情况下，采用透射电镜显微镜与激光共聚焦显微镜观察 AP 小鼠中自噬流，采用免疫组化法与免疫

蛋白印迹法检测青蒿琥酯对 AP 中自噬相关蛋白和 TLR4/TRAF6/Beclin-1 信号途径关键分子的影响。

结果：在体内，青蒿琥酯可减轻 AP 小鼠胰腺组织病理学损伤、降低血清淀粉酶活性、提高超氧化物歧化酶活性、降低前炎症细胞因子水平。在体外，青蒿琥酯能够抑制 LPS 联合 TP 诱导巨噬细胞中前炎症细胞因子水平。机制相关研究发现，青蒿琥酯能够减少 AP 小鼠中自噬溶酶体的数量，减少 LPS 联合 TP 诱导 RAW264.7 细胞中自噬小体与自噬溶酶体的数量，抑制自噬相关蛋白如 LC3、ATG3、ATG16L1 与 TLR4/TRAF6/Beclin-1 信号转导途径相关蛋白如 TLR4、MyD88、TRAF6、Beclin-1 的表达。

结论：青蒿琥酯可通过抑制 TLR4/TRAF6/Beclin-1 信号途径介导的自噬发挥治疗急 AP 的作用。

关键词：急性胰腺炎；青蒿琥酯；脂多糖；胰蛋白酶；自噬

## 新型 LSD1 抑制剂 1072 对急性髓系白血病细胞的机制研究

刘秋阁<sup>1</sup>，贾美琪<sup>1</sup>，王子月<sup>2</sup>，张赛扬<sup>1\*</sup>

1. 郑州大学基础医学院，河南 郑州，450001

2. 郑州大学药学院，河南 郑州，450001

目的：目前，传统化疗方法是急性髓系白血病（Acute myeloid leukemia, AML）治疗的主要手段，但其无法根除白血病干细胞（LSCs），而 LSCs 是 AML 患者耐药和复发的根源。因此，探索新的 AML 治疗策略是当前研究的重要课题。在前期工作的基础上<sup>[1]</sup>，课题组设计合成了一系列具有抑制 LSD1 活性的化合物，选用 CCK8 检测法在三株人肿瘤细胞系（原髓细胞白血病细胞 HL-60，髓性单核细胞白血病细胞 MV-4-11，单核细胞白血病细胞 THP-1）中评价系列化合物的抗增殖活性，其中最优化合物对髓性单核细胞白血病细胞 MV-4-11 的抗肿瘤活性最佳，因此对最优化合物进行抗肿瘤药理机制研究。

方法：采用 CCK8 实验检测其对多种人源肿瘤细胞系的体外抗增殖活性；通过蛋白免疫印迹实验检测相关底物的蛋白水平；通过碱性蛋白酶实验探究最优化合物与靶目标蛋白 LSD1 的结合情况；采用流式细胞术和蛋白免疫印迹实验检测最优化合物对白血病细胞凋亡相关蛋白水平的影响；通过蛋白免疫印迹实验检测最优化合物对 MV-4-11 细胞干性的影响。

结果：化合物 1072 对髓性单核细胞白血病细胞 MV-4-11 细胞抗增殖效果最佳，IC<sub>50</sub> 为 0.313  $\mu$ mol/L。蛋白免疫印迹实验结果表明随化合物 1072 浓度增加，LSD1 底物蛋白 H3K4 单双甲基化蛋白水平升高；碱性蛋白酶实验结果表明化合物 1072 能够和 LSD1 结合。流式细胞术

结果显示化合物 1072 能诱导 MV-4-11 细胞的凋亡, 蛋白免疫印迹实验结果表明凋亡执行蛋白 Cleaved-Caspase 3、Cleaved-Caspase 7 水平升高。蛋白免疫印迹实验结果表明化合物 1072 可以降低干性标志物 SOX2 和 CD44 的蛋白水平。

结论: 化合物 1072 是一种新型的 LSD1 抑制剂。化合物 1072 可以和靶蛋白 LSD1 结合, 抑制底物蛋白 H3K4 去甲基化, 具有诱导细胞凋亡和降低 MV-4-11 细胞干性的作用, 因此具有良好的抗肿瘤活性。从而期望为新药开发及联合治疗方案提供研究依据与理论支持。

关键词: LSD1 抑制剂; MV-4-11 细胞; 抗肿瘤

## 食管鳞癌细胞 FTH1 经外泌体途径传递并调控受体肿瘤细胞铁死亡的机制研究

刘坦萌<sup>1</sup>, 何晓彤<sup>2</sup>, 范天黎<sup>1</sup>

1. 郑州大学基础医学院, 河南 郑州, 450001

摘要: 目的: 探讨食管鳞癌细胞经外泌体分泌的铁蛋白重链 1 (FTH1) 被细胞摄取后对铁死亡的影响, 研究外泌体作为重要的信息传递载体在铁死亡调控及耐药性传递方面的作用, 为食管鳞癌早期诊断和耐药性监测提供新的方向和思路。方法: 利用 Western blot 检测敲低或过表达 FTH1 对于细胞及外泌体中 FTH1 表达水平的影响; 提取食管鳞癌耐药细胞外泌体与亲本细胞共同孵育, 利用 Western blot 检测铁死亡相关蛋白的表达水平; 利用 CCK-8 实验检测经化疗药物处理的亲本细胞的耐药性变化; 裸鼠皮下荷瘤实验检测含有 FTH1 的外泌体对于肿瘤增殖能力的影响, 免疫组化实验检测肿瘤组织中铁死亡相关蛋白的表达情况; LC-MS 蛋白组学分析基因表达差异。结果: 外泌体中的 FTH1 可被亲本细胞摄取, 并抑制其铁死亡的发生, 进而导致耐药, LC-MS 蛋白组学分析发现 FTH1 在耐药细胞中高表达, 通过食管鳞癌患者血液标本发现血液中外泌体 FTH1 与肿瘤进展及耐药高度相关。结论: 食管鳞癌细胞 FTH1 可经外泌体途径传递并抑制受体肿瘤细胞铁死亡, 进而导致耐药。

关键词: FTH1; 食管鳞癌; 化疗耐药; 外泌体; 铁死亡

## N-亚油酰酪氨酸诱导铁死亡抗非小细胞肺癌

刘远亭, 刘沙\*

成都医学院, 四川 成都, 610500

目的: 揭示 N-亚油酰酪氨酸 (N-linoleyltyrosine, NITyr) 抗非小细胞肺癌的作用及其机制。方法: 首先在体外实验中, 利用不同浓度的 NITyr (0、10、25、50、75、100  $\mu\text{g/mL}$ ) 处理 A549、LLC 细胞, 采用 MTT 法检测细胞活力, 流式细胞仪检测细胞周期和细胞凋亡, 划痕实验检测细胞迁移能力; 在机制研究中, 利用 western blot 实验检测细胞死亡相关标志物如铁死亡相关蛋白 GPX4, 铜死亡相关蛋白 FDX1 及细胞焦亡相关蛋白 GSDMD; 利用生化试剂盒检测细胞 ROS、脂质过氧化物、肿瘤  $\text{Fe}^{2+}$  水平以及细胞线粒体膜电位变化; 并利用网络药理学预测 NITyr 抗非小细胞肺癌的潜在靶点; 免疫荧光及 western blot 方法检测靶点及下游信号通路的变化; 其次在体内研究中, 建立 C57BL/6 小鼠肿瘤模型, 考察 NITyr 给药后对小鼠肿瘤生长的作用。结果: 在活性研究中, 发现与正常组相比, 25、50、75、100  $\mu\text{g/mL}$  NITyr 显著抑制细胞活力, 阻滞细胞周期, 促进细胞凋亡, 降低细胞迁移能力, 且随药物浓度增加更明显; western blot 结果表明, NITyr 下调 GPX4 蛋白表达, 对 FDX1、GSDMD 影响不明显, 且升高 A549、LLC 细胞 ROS 和脂质过氧化物水平, 细胞线粒体膜电位明显降低以及肿瘤组织中的  $\text{Fe}^{2+}$  水平增加; 网络药理学预测 NITyr 抗非小细胞肺癌的潜在靶点共有 83 个, 其中 ERK1 and ERK2 cascade 为抗非小细胞肺癌的关键靶点; 免疫 Western 印迹分析表明, NITyr 下调 p-ERK 的表达以及铁死亡其他相关蛋白如 NRF2、HO-1、FTH1 的表达; 体内实验表明给药组肿瘤增长率明显低于不给药组, 抑瘤率为 81.4%, 抗肿瘤效果明显。

结论: N-亚油酰酪氨酸诱导铁死亡抗非小细胞肺癌

关键词: 非小细胞肺癌; N-亚油酰酪氨酸; 铁死亡

## 乐伐替尼抑制肝癌中 UGT1A1 表达的分子机制研究

刘壮壮<sup>1</sup>, 李盈莹<sup>1</sup>, 李继琴<sup>1</sup>, 刘雪丽<sup>1</sup>, 侯春雨<sup>1</sup>, 方东<sup>1</sup>, 孙华<sup>1\*</sup>, 谢松强<sup>1\*</sup>

1. 河南大学药学院, 河南 开封, 475004

肝细胞癌 (HCC) 作为一种常见的恶性实体肿瘤, 是导致全球癌症相关死亡的第四大原因<sup>[1,2]</sup>。乐伐替尼是一种口服多靶点酪氨酸激酶抑制剂, 为晚期及不能手术治疗肝癌患者的一线用药<sup>[1]</sup>。据统计, 超过 80% 的癌症病例发生在 60 岁以上的患者中, 其中高达 80% 的人患有合并症, 如心血管疾病、神经精神疾病、呼吸系统疾病、消化系统疾病、关节炎、患有多种类型的

癌症等<sup>[3]</sup>。因此，酪氨酸激酶抑制剂（TKI）通常与其他药物联合治疗癌症患者<sup>[4]</sup>。因此，涉及 TKI 的药物相互作用（DDI）是一个潜在的临床问题。而药源性代谢酶（DME）表达量或活性的改变是引起 DDI 的重要原因之一。UGT1A1（UDP—葡萄糖醛酸基转移酶 1A1）是人体一类重要的 II 相代谢酶，在内源性物质（雌激素、胆红素等）和外源性物质（药物、营养物质和外界环境物质）的清除过程中发挥关键作用，其活性及表达的改变可能会引起高胆红素血症和 DDI 的发生<sup>[5,6]</sup>。本研究首先考察了乐伐替尼在治疗肝癌过程中对 UGT1A1 表达和活性的影响。其次，肝细胞核因子 4 $\alpha$ （HNF4 $\alpha$ ）是核受体 NR2A 亚族的成员，能够调控多种药物代谢酶的转录表达，本研究接下明确了 HNF4 $\alpha$  在乐伐替尼调控 UGT1A1 表达中的关键作用，并探讨其内在分子机制。研究发现，乐伐替尼通过激活 ERK5（Thr218/Tyr220），促进 HNF4 $\alpha$ （Ser313）磷酸化，导致 HNF4 $\alpha$  的表达下降，减少 HNF4 $\alpha$  与 UGT1A1 启动子（-808 bp~-822 bp）的结合，从而抑制 UGT1A1 的表达，并影响抗肿瘤活性药物 SN-38（主要经 UGT1A1 代谢）的血浆药物浓度水平和 UGT 代谢速率。该研究结果将为评价乐伐替尼与经 UGT1A1 代谢药物联合使用的安全性和有效性提供科学依据，并为预测肝癌患者治疗过程中潜在的 DDI 提供潜在的思路理论基础。

关键词：乐伐替尼；UDP—葡萄糖醛酸基转移酶 1A1；肝细胞核因子 4 $\alpha$ ；药物间相互作用；转录调控

## 青蒿琥酯衍生物 DHA27 联合阿莫西林的抗菌增敏作用及机制研究

龙熟娟，黄雅思，周红\*

遵义医科大学基础教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室，贵州遵义，563000

目的：基于前期的工作基础，本实验为明确青蒿琥酯衍生物 DHA27 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（methicillin-resistant *staphylococcus aureus*, MRSA）的抗菌增敏作用，并对 DHA27 联合阿莫西林对 MRSA 的抗菌机制进行初步研究，为 MRSA 的治疗提供新的思路。

方法：首先，采用微孔二倍稀释法测定 DHA27 和不同抗菌药物（ $\beta$ -内酰胺类、多肽类、氨基糖苷类、氟喹诺酮类）对 MRSA 标准菌株与临床菌株的抗菌活性；采用棋盘法测定 DHA27 和多种抗菌药物联合使用的协同抑菌活性，明确 DHA27 的抗菌增敏作用。其次，采用临床菌株 SAZY2 建立的亚致死剂量脓毒症小鼠模型，采用平板计数法检测脓毒症模型小鼠中血液、脾脏、肺脏细菌载荷量；酶联免疫吸附法（enzyme linked immunosorbent assay, ELISA）检测血清、脾脏、肺脏中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平；苏木精-伊红染色法（hematoxylin-eosin staining, HE）检测对脓毒症模型小鼠中肺脏、脾脏组织的影响。然后，采用透射电镜法检测 DHA27 联合阿莫

西林对 SAZY2 菌株细胞壁结构的影响, 采用柔红霉素法和超高效液相色谱-质谱联用法 (ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry, UPLC-MS) 检测 DHA27 对药物积聚的影响; 进一步采用实时荧光定量 PCR 法 (quantitative real-time PCR, RT-qPCR) 检测 DHA27 对 MRSA 的相关耐药基因的影响。最后, 采用蛋白免疫印迹法 (western blot, WB) 检测 DHA27 对 SAZY2 细菌中 PBP2a 的蛋白水平的影响, 初步确定 DHA27 联合阿莫西林的抗菌增敏机制。

结果: DHA27 与  $\beta$ -内酰胺类抗生素阿莫西林联合使用具有良好的抗菌增敏活性 (FICI = 0.28), 在 24 h 内可显著抑制 MRSA 临床菌株 SAZY2 的生长; DHA27 与阿莫西林联合使用可显著降低脓毒症模型小鼠中血液、脾脏、肺脏细菌载荷量; 可显著降低脓毒症模型小鼠中血清、脾脏、肺脏中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平, 可明显减轻脓毒症模型小鼠中肺脏、脾脏组织的损伤; 在机制研究中, DHA27 与阿莫西林联合使用对 SAZY2 细菌细胞壁有一定破坏作用; DHA27 可一定程度上增加药物在菌体内的积聚; DHA27 联合阿莫西林可显著降低 MRSA 中 *mecA* 基因 mRNA 的表达, 可显著降低 MRSA 菌株 PBP2a 蛋白的表达水平。

结论: DHA27 联合阿莫西林对 SAZY2 具有抗菌增敏作用, 并对亚致死剂量 SAZY2 攻击脓毒症小鼠模型具有一定治疗作用, 其作用机制主要与抑制 SAZY2 菌株中 *mecA* 基因的 mRNA 转录, 进而降低 PBP2a 蛋白水平有关。

关键词: 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; DHA27; 阿莫西林; 抗菌增敏作用; PBP2a

## 氮唑类抗真菌药物增效剂的研发及机制研究

鹿辉, 姜远英\*

同济大学医学院同济大学附属第十人民医院, 上海, 200331

目的: 近些年来, 由念珠菌属引起的念珠菌病 (candidiasis) 的发病率和病死率居高不下, 严重损害了人类的身体健康, 造成了沉重的医疗负担。氮唑类 (azoles) 药物因其抗菌谱广、安全性好、给药途径多样等诸多优点而被广泛用于念珠菌病的预防和治疗。然而, 长期使用氮唑类药物预防或治疗念珠菌病, 可使念珠菌属产生耐药性 (resistance), 其特征是氮唑类药物抗耐药菌株的最小抑制浓度 (minimal inhibition concentration, MIC) 较敏感菌株升高 (图 1A)。值得注意的是, 氮唑类药物对由非耐药菌株引起的感染也存在治疗失败的情况, 其主要原因是念珠菌属具有耐受氮唑类药物的能力。因此, 念珠菌属产生氮唑类药物耐药性和耐受性并降低该类药物治疗念珠菌病的疗效, 是一个亟需解决的临床问题。方法: 我们主要利用联合抑菌指数 (fractional inhibitory concentration index, FICI) 和杀真菌活性测定等实验手段筛选氮唑类药物

协同增效剂。结果：我们发现抑制麦角甾醇合成的匹伐他汀、CZ66 和影响 Upc2 转录活性的抑制剂均可增强氮唑类药物的抗真菌活性。结论：我们发现，麦角甾醇的合成通路是增强氮唑类药物抗真菌活性的重要靶点，抑制麦角甾醇的合成可以增强氮唑类药物的抗真菌活性，甚至使氮唑类药物具有杀真菌作用，以提高氮唑类药物治疗念珠菌病的疗效。

关键词：氮唑类药物增效剂；氮唑类药物耐药性；氮唑类药物耐受性；念珠菌病

## 藏药乌奴龙胆对急性肝损伤的保护作用及机制研究

吕雅心<sup>1,2</sup>，吴思琪<sup>1,2</sup>，胡怡婷<sup>1,2</sup>，陈怡宏<sup>1,2</sup>，赵勤<sup>1,2\*</sup>

1. 西藏藏医药研究中心藏药活性成分及药理机制研究联合实验室，陕西 咸阳，712082

2. 西藏民族大学藏药检测技术教育部工程研究中心，陕西 咸阳，712082

目的：研究藏药乌奴龙胆对四氯化碳（CCl<sub>4</sub>）所致的小鼠急性肝损伤保护作用及可能的作用机制。方法：将 60 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠按体重随机分为正常组、模型组、阳性对照组（联苯双酯滴丸，150 mg/kg）和乌奴龙胆低、中、高剂量组（0.675、1.35、2.7 g/kg），每组 10 只。每天灌胃给药 1 次，灌胃等体积相应药物或生理盐水，连续 7 d。末次灌胃 2 h 后，除正常组外的其余各组小鼠均腹腔注射 1% CCl<sub>4</sub>—橄榄油溶液复制急性肝损伤模型。禁食不禁水 16 h 后，摘除眼球取血，采集肝脏放—80 冰箱保存以便后续实验。生化法检测小鼠血清中丙氨酸转氨酶（ALT）、天冬氨酸转氨酶（AST）、白蛋白（ALB）、乳酸脱氢酶（LDH）。肝组织中 SOD、GSH—Px 及 MDA 含量。酶联免疫吸附法检测肝组织中 TNF—α、IL—6、IL—1β 含量。测定小鼠的肝脏指数，采用实时荧光定量 PCR 法检测小鼠肝组织中 IL—6、TNF—α mRNA 表达水平。结果：与正常组比较，模型组小鼠 ALT、AST、LDH、IL—6、TNF—α、IL—1β、MDA 水平和肝脏指数显著升高，SOD、GSH—Px、ALB 水平显著降低；IL—6、TNF—α mRNA 表达显著上调；与模型组比较，胆南星低、中、高剂量组能剂量依赖性的降低小鼠 ALT、AST、LDH、IL—6、TNF—α、IL—1β、MDA 水平和肝脏指数，显著升高 SOD、GSH—Px、ALB 水平；显著下调 IL—6、TNF—α mRNA 表达；结论：乌奴龙胆对 CCl<sub>4</sub> 致小鼠急性肝损伤具有保护作用，其机制可能与抗炎作用有关。

关键词：乌奴龙胆；急性肝损伤；炎症反应



## 高通量浓度梯度的肝类器官芯片的构建及药物筛选的研究

彭青<sup>1,2</sup>, 李诗<sup>2,1</sup>, 叶亮<sup>2</sup>, 李彬辉<sup>2,1</sup>, 周树勤<sup>3</sup>, 杨万人<sup>2,1</sup>, 周颖棋<sup>2,1</sup>, 张莹<sup>1,2</sup>

1. 香港中文大学（深圳）附属第二医院深圳市龙岗区人民医院消化疾病研究所, 广东 深圳, 518172
2. 南方医科大学珠江医院肝胆二科再生医学研究所, 广东 广州, 510260
3. 香港中文大学（深圳）附属第二医院深圳市龙岗区人民医院麻醉科, 广东 深圳, 518172

目前临床上可用于肝细胞癌治疗的药物十分有限, 疗效也不尽如人意。因此, 研发新的高效低毒的抗肝细胞癌药物迫在眉睫。然而, 当前的新药筛选体外模型无法完全满足仿生和高通量筛选的需求, 动物模型又存在种属差异问题, 这些都导致了临床试验的高失败率和药物开发的低效性。为了显著降低临床试验的失败率, 节约药物开发成本, 亟待开发更优化的临床前模型来进行药物的预测和筛选。而类器官芯片作为近年来的新兴技术有望解决上述存在的问题, 是目前研究的热点和趋势。本研究设计构建了一种新型的高度仿生的微流控浓度梯度的肝类器官芯片模型, 并以此模型为平台进行抗肝癌新药的高通量筛选及安全性评测。采用质谱检测、活死染色、免疫荧光等方法对芯片进行结构和生物学验证。构建人原代组织来源的肝癌类器官和肝类器官, 继而构建肝癌类器官芯片和肝类器官芯片模型, 采用活死染色、ELISA、免疫荧光染色等方法进行抗肝癌新药的高通量筛选及安全性评估, 并与传统静态二维和三维培养条件下的药筛模型做药物敏感度对比。依托以上药物筛选模型, 我们找到了一种抗肿瘤效果和安全性均优于索拉菲尼的抗肝癌新药 (HDAC 抑制剂)。与传统静态二维和三维培养条件下的药筛模型作对比, 三维类器官的动态培养下药物的  $IC_{50}$  升高, 抗肝癌药物耐药性增加。本研究结合微流控浓度梯度芯片和类器官芯片的优势, 成功构建了一种先进的高度仿生的微流控浓度梯度的肝类器官芯片模型, 并以所构建类器官芯片模型为药物筛选平台, 找到了一种潜在的抗肝细胞癌新药。该研究成果有望为未来药物研发提供新思路。

## 糖酵解介导的凋亡在阿霉素心脏毒性和乳腺癌治疗中的作用研究

黄嘉敏<sup>1</sup>, 乔若琪<sup>1</sup>, 苏素文<sup>1\*</sup>

河北医科大学药理学教研室, 河北 石家庄, 050017

目的: 最新癌症研究数据显示, 乳腺癌已经成为全球第一大癌症, 是女性最常见的恶性肿瘤之一, 发病率约占全身各种恶性肿瘤的十分之一, 是危及女性生命的疾病, 也是女性人口死亡的主要原因。随着对乳腺癌研究的逐渐深入以及科技的进步, 已经有多种措施可以治疗乳腺癌。目前乳腺癌多采用联合治疗的方式, 使乳腺癌患者的生存率大大提高, 然而化学治疗仍然

是最主要的治疗措施。蒽环类药物由于具有疗效高、作用强的特点，现在仍然是治疗乳腺癌的基石，但剂量依赖性心脏毒性是限制其疗效充分发挥的制约因素。目前，同步分析阿霉素对肿瘤组织和心肌组织糖脂代谢方面的研究鲜有报道。研究认为，能量代谢改变是癌细胞的“指纹”，是“癌症的标志”，这种代谢表型的特征在于优先依赖糖酵解（葡萄糖转化为丙酮酸的过程，然后产生乳酸）产生能量。尽管糖酵解产生的能量不如氧化磷酸化有效，但癌细胞通过增加葡萄糖摄取来适应，这反过来又促进了更高的糖酵解率。近年来越来越多的研究提示，糖酵解在肿瘤发生发展中的作用至关重要，药物可以通过调节糖酵解影响肿瘤治疗。除此之外，脂代谢紊乱也参与乳腺癌的发生与发展，其中脂肪酸结合蛋白（FABP4）在乳腺癌中发挥着重要作用，且在心肌组织高表达，但 FABP4 在阿霉素抗乳腺癌和心脏毒性中的作用目前尚未见报道。因此本研究拟采用荷 4T1 乳腺癌小鼠模型，观察阿霉素的抗乳腺癌作用及其对心脏的影响，并结合体外实验分析 FABP4 介导的糖酵解在其中的作用，为临床减轻阿霉素的心脏毒性而不影响或增强其抗肿瘤作用提供实验证据和干预靶点。

#### 方法：

##### 1. 体内实验

动物模型建立：选取 40 只 SPF 级 BALB/c 雌性小鼠，初始体重在 18 g 左右。将小鼠适应性喂养一周后随机分成 4 组，分别为：对照组（CON n=6），阿霉素组（DOX n=6），荷瘤小鼠组（4T1 n=6），荷瘤小鼠给药组（4T1+DOX n=6）。在需荷瘤小鼠乳房下的脂肪垫注射  $1 \times 10^6$ /ml 4T1 乳腺癌细胞悬液。观察肿瘤形成情况。给药组均腹腔注射阿霉素，隔日给药，每次 3 mg/kg，一共给药 5 次，累计剂量 15 mg/kg；CON 组和 4T1 组腹腔注射等体积的生理盐水。

指标测定：最后一次给药结束后，对小鼠进行超声和心电图检查，解剖前禁食 12 小时，眼球取血，分离血清，测定血清中肌酸激酶（CK）和肌酸激酶同工酶（CK-MB）的浓度；分别取出肿瘤组织和心脏组织称重并记录。用多聚甲醛固定部分心肌组织和肿瘤组织，HE 染色观察心脏组织病理学改变，PAS 糖原染色检查肿瘤组织糖原含量的变化，通过油红 O 染色检测肿瘤组织中脂质含量的变化，免疫组织化学技术检测心脏和肿瘤组织 FABP4 的分布情况。部分心肌组织和肿瘤组织制成匀浆，使用蛋白质印迹（WB）技术检测心脏组织和肿瘤组织脂代谢相关蛋白（FABP4、PPAR- $\gamma$ ）、糖酵解相关蛋白（HK2、HIF-1A、PKM 及 GLUT4）和凋亡相关蛋白（BAX、Bcl-2）的表达。

2. 体外实验：于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱培养 4T1 细胞，待细胞贴壁完全后长至 80% 左右，随机将细胞分为 4 组：分别是阴性对照组（CON）、阿霉素组（DOX）、FABP4 靶向抑制剂 BMS309403 组（BMS309403）及 BMS309403 和阿霉素给药组（BMS309403 + DOX），根据选定的给药浓度加入阿霉素和 BMS309403，培养 24 小时（h），通过 CCK-8 法检测细胞存活率。培养细胞进行蛋白提取实验，使用 WB 技术检测脂代谢相关蛋白（FABP4、PPAR- $\gamma$ ）、糖酵解相关蛋白（HK2、HIF-1A、PKM 及 GLUT4）和凋亡相关蛋白（BAX、Bcl-2）的表达，通过流式细胞术

检验细胞凋亡情况。再次将细胞随机分为 4 组：分别是对照组 (CON)、阿霉素组 (DOX)、PKM2 靶向激动剂 TEPP-46 组 (TEPP-46) 及 TEPP-46 和阿霉素给药组 (TEPP-46 + DOX)，同样进行 CCK-8 法检测细胞存活率，采用 WB 技术检测脂代谢相关蛋白 (FABP4、PPAR- $\gamma$ )、糖酵解相关蛋白 (HK2、HIF-1A、PKM 及 GLUT4) 和凋亡相关蛋白 (BAX、Bcl-2) 的表达。

结果：

#### 一、体内实验结果

1. 小鼠一般状况：CON 组小鼠毛发光亮，活泼好动，食欲正常；DOX 组小鼠毛发暗沉而打结，安静，食欲减轻，体重低于 CON 组 ( $P < 0.01$ )；4T1 组小鼠，毛发暗沉但顺畅，较安静，摄食量下降；相比于 4T1 组，4T1+DOX 组小鼠精神状态最差，安静，食欲不振，体重下降 ( $P < 0.05$ )，但体重下降程度弱于 DOX 组。4T1+DOX 组较 4T1 组肿瘤重量减轻 ( $P < 0.01$ )。

2. 血清生化指标：相较于 CON 组，DOX 组血清中 CK 及 CK-MB 均明显升高 ( $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ )，NEFA 和 TG 值明显下降 ( $P < 0.01$ )；4T1+DOX 组与 4T1 组相比，血清中 CK 和 CK-MB 也升高，NEFA 和 TG 值无明显变化。

#### 3. 阿霉素对小鼠心脏损伤的影响

3.1 心脏超声造影结果：与 CON 组对比，DOX 组心脏左室短轴缩短率 (FS) 和射血分数 (EF) 均降低 ( $P < 0.01$ )；与 4T1 组对比，4T1+DOX 组 FS 和 EF 均降低，但降低幅度低于 DOX 组。

3.2 心脏 HE 染色结果：CON 组和 4T1 组心肌细胞状态良好，肌纤维排列紧密；而 DOX 组和 4T1+DOX 组心肌纤维排列疏松，胞浆颜色浅。

3.3 心肌组织 FABP4 免疫组化结果：相比于 CON 组和 4T1 组，DOX 组心肌细胞内出现大量阳性染色，而 4T1+DOX 组心肌细胞内阳性染色较弱。

3.4 心脏组织 WB 结果：相较于 CON 组，DOX 组心脏组织 FABP4 及 BAX 蛋白表达水平都升高 ( $P < 0.01$ 、 $P < 0.0001$ ) HIF-1A 呈升高趋势但无明显统计学差异，PPAR- $\gamma$ 、HK2、PKM 及 Bcl-2 表达水平都下降 ( $P < 0.001$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.0001$ )，GLUT4 变化不明显；相较于 4T1 组，4T1+DOX 组 BAX 蛋白表达水平升高 ( $P < 0.0001$ )，GLUT4 和 Bcl-2 表达水平也都下降 ( $P < 0.01$ 、 $P < 0.0001$ )。HIF-1A、PPAR- $\gamma$  呈升高趋势，HK2 趋势变化不明显，PKM、PPAR- $\gamma$  呈下降趋势。

#### 4. 阿霉素对小鼠肿瘤组织的治疗作用

4.1 非靶向代谢组学：通过代谢组学将 4T1 与 4T1+DOX 进行差异化合物的筛选与鉴定，共筛选出 79 个差异代谢物，取前 20 个差异代谢物导出，整理格式后于在线软件 Simca 14.1 和 KEGG 数据库中进行代谢物富集分析，根据潜在生物标志物分析代谢通路发现，4T1+DOX 组和 4T1 组相比，甘油磷脂代谢、鞘磷脂代谢和赖氨酸代谢是乳腺癌组织中差异据三位的脂质代谢通路。

4.2 肿瘤组织 PAS 染色结果：相比于 4T1 组，4T1+DOX 组糖原储存减少。

4.3 油红 O 染色结果：相比于 4T1 组，4T1+DOX 组有明显红色脂滴的堆积，表示 DOX 可增加细胞内脂质堆积。

4.4 FABP4 免疫组化结果：CON 组和 4T1 组心肌细胞状态良好，心肌纤维排列紧密；而 DOX 组和 4T1+DOX 组心肌纤维排列疏松，胞浆淡染。

4.5 肿瘤组织 WB 结果：相较于 4T1 组，4T1+DOX 组 FABP4、PPAR- $\gamma$  蛋白表达水平升高 ( $P$  均 $<0.05$ )，GLUT4、HIF-1A、PKM、PKM2、HK2 蛋白的表达水平降低 ( $P<0.05$ 、 $P<0.0001$ 、 $P<0.05$ )，凋亡相关蛋白 BAX 蛋白表达水平升高 ( $P<0.05$ )、BCL-2 蛋白表达水平降低 ( $P<0.01$ )、Cleaved-caspase3 蛋白表达水平升高 ( $P<0.0001$ )、P62 蛋白表达水平升高、Beclin1 蛋白表达水平降低 ( $P<0.05$ )。

## 二、体外实验

1. CCK-8 细胞活力检测：DOX 可浓度依赖性降低 4T1 细胞存活力，其  $IC_{50}=4.7$ 。

BMS309403 在 10  $\mu$ M、20  $\mu$ M、50  $\mu$ M 时对细胞活力未见明显影响；BMS309403 与 DOX 联合用药后，可减轻 DOX 引起的细胞活力降低的作用。

TEPP-46 在 1  $\mu$ M、5  $\mu$ M、10  $\mu$ M、30  $\mu$ M、50  $\mu$ M 时对细胞活力未见明显影响，而 TEPP-46 与 DOX 联合用药后，可减轻 DOX 引起的细胞存活力降低的作用。

2. WB 结果：与 CON 组相比，DOX 组 GLUT4、HIF-1A、PKM、PKM2、HK2 蛋白表达水平降低 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。DOX+BMS309403 组与 DOX 组相比 GLUT4、HIF-1A、PKM、PKM2、HK2 蛋白表达水平升高 ( $P<0.001$  或  $P<0.05$ )。TEPP-46 + DOX 组与 DOX 组相比 PKM2 蛋白表达水平增加 ( $P<0.0001$ )，凋亡相关蛋白 BAX 蛋白表达水平降低 ( $P<0.05$ )、BCL-2 蛋白表达水平增加 ( $P<0.05$ )、Cleaved-caspase3 表达水平降低 ( $P<0.0001$ )。

3. 流式细胞术检测 4T1 细胞凋亡：和 CON 组相比，DOX 组凋亡水平升高，DOX+BMS309403 凋亡水平降低。

## 结论：

1、阿霉素所致的心肌损伤在正常小鼠中与 FABP4、PPAR- $\gamma$  相关的脂代谢和 PKM、HK2 相关的糖酵解有关，在荷瘤小鼠中主要与 GLUT4 参与的糖代谢有关。

2、阿霉素对乳腺癌的治疗作用与 FABP4 介导的脂代谢紊乱、糖酵解的抑制和细胞凋亡有关。

关键词：阿霉素；心脏毒性；乳腺癌；糖酵解；脂质代谢

## hnRNP C 驱动 *pre-MCTP2* 环化剪接诱发新生多肽 circMCTP2-166aa 生成调控卵巢癌细胞干性新模式

孙晓雨<sup>1</sup>，徐苏影<sup>1</sup>，颜媛媛<sup>1</sup>，何苗<sup>1\*</sup>，魏敏杰<sup>1\*</sup>

1. 中国医科大学药学院药理教研室，辽宁沈阳，110000

目的：卵巢癌（Ovarian cancer, OC）因其高复发率和高耐药性而成为女性生殖系统肿瘤死亡率最高的癌症，被称为“妇癌之王”。卵巢癌细胞（Ovarian cancer stem cells, OCSCs），在对常规化学治疗的耐药性和高肿瘤起始潜力中起着关键作用。同时，环状 RNAs（circRNAs）作为肿瘤新兴热点分子，对卵巢癌干性重塑和化疗抵抗的机制有待阐释。

方法：采用高通量 RNA 测序对 OC 细胞系及其诱导的具有干性特性的卵巢癌球囊细胞系中差异表达的 circRNAs 进行鉴定并发现 circMCTP2。随后，采用 Sanger 测序、RIP 和 PULL DOWN 明确 circMCTP2 的生物发生机制。此外，采用免疫印迹和液相色谱串联质谱仪考察 circMCTP2 编码多肽的能力并确认编码新生多肽 circMCTP2-166aa。最后，使用慢病毒转染的稳定 OVCAR3 和 CAOV3 细胞在体外和体内评估 circMCTP2 及其新生多肽的生物学 circMCTP2-166aa 功能，阐明了其介导卵巢癌干细胞的干性重塑及化疗抵抗的分子机制。

结果：本研究首次发现并鉴定了一种未被报道过的、在 OC 细胞和 OCSCs 中均显著高表达的环状 RNA——circMCTP2。它由 530nt 组成、并含有长度为 125nt 的 IRES 原件，是 OCSCs 维持自我更新以启动卵巢癌发生发展的关键分子，同时介导卵巢癌不良预后。其次，我们阐释它的生物发生机制，即是由 RNA 结合蛋白 hnRNP C 的 RNA 结合域（RRM）（aa2-94）通过与 *pre-MCTP2* 中 2 号外显子上下游内含子的五聚尿嘧啶重复序列（UUUUU）（-3228~-3277，+3076~+3122）直接结合，驱动反向剪接发生，介导 2 号外显子首尾相接环化形成。最后，我们解析 circMCTP2 由第 401-525 位的 IRES 原件驱动，通过长度为 500nt 的 ORF 编码一种含有 166 个氨基酸的新生多肽 circMCTP2-166aa；并进一步揭示：circMCTP2-166aa 直接与 Gli1 的 degron 结构域（Dn（aa77-166）和 Dc（aa464-469）相互作用，抑制其泛素化降解，增加稳定性并促进其转录激活 C-MYC/ABCB1 的表达从而促进卵巢癌干细胞的干性重塑和对 PTX 的化疗抵抗。

结论：总体而言，我们报告了一种 HNRNPC-circMCTP2-166aa-Gli1 轴在卵巢癌细胞自我更新、耐药性和致瘤性方面发挥着关键作用，为阐释卵巢癌恶性表型提供了新型研究策略。

关键词：circRNAs；卵巢癌细胞；干性重塑；化疗抵抗；生物发生

## 甘草及活性成分对顺铂致肾损伤的保护作用及机制

唐山珊<sup>1</sup>，曼琼<sup>1\*</sup>，伍怡颖<sup>1\*</sup>

1. 成都医学院药学院药理学教研室，四川成都，610500

2. 成都医学院药学院，结构特异性小分子药物研究四川省高校重点实验室，四川成都，610500

顺铂 (Cisplatin, CP) 是临床常用的抗肿瘤药物。然而，肾毒性是限制其临床应用的主要不良反应。目前中医药辅助治疗广泛用于肿瘤放化疗的减毒增效，以提高患者生活质量，延长生存期。其中甘草具有缓急止痛、抗炎、免疫调节及消化系统保护作用等多种功效，是临床常用的减毒药物。但甘草对 CP 所致肾损伤的保护作用及机制尚不完全清楚。因此，本研究拟通过观察甘草及其活性成分对 CP 肾损伤大鼠的肾功能以及血清代谢物的影响，从而揭示甘草缓解 CP 肾损伤的可能机制及物质基础。首先，本研究利用 CP 诱导 Wistar 大鼠肾损伤模型，灌胃给予甘草 (GC)、甘草酸铵 (GLA) 和甘草次酸 (GLG) 进行干预，并采用化学保护剂氨磷汀 (AMF) 作阳性对照。结果显示 AMF、GC、GLG 及 GLA 可显著降低 CP 诱导的大鼠血清中尿素氮，肌酐水平的升高。苏木精和伊红 (HE) 染色显示，AMF、GC、GLG 及 GLA 可减轻肾组织病理损伤，包括肾小管坏死和小管扩张。与肾损伤模型组相比，经 AMF、GC、GLG 及 GLA 干预后，大鼠肾脏组织中 MDA、TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  水平降低，SOD、Bcl-2 水平升高。免疫组化结果显示，与模型组比较，AMF、GC、GLG 及 GLA 组大鼠肾组织中 HMGB1 由胞核转移至胞浆减少，并且细胞核内 p53 阳性表达明显降低。此外，对大鼠血浆进行了代谢组学分析，以 VIP>1，且 P value<0.5，FC>2 或 FC<0.5 为筛选标准，得到正常组/模型组和模型组/GL 干预组大鼠显著差异代谢物 106 个；正常组/模型组和模型组/GLG 干预组显著差异代谢物 64 个；正常组/模型组和模型组/GLA 干预组显著差异代谢物 38 个。将共有差异代谢物于 Metaboanalyst4.0 网站进行代谢通路富集分析，富集到 GC 干预作用相关代谢通路 9 条，涉及关键代谢物 17 个，参与乙醛酸盐和二羧酸代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢等通路。GLG 干预作用相关代谢通路 6 条，涉及关键代谢物 6 个，参与氨基糖和核苷酸糖代谢、精氨酸和脯氨酸代谢等通路。GLA 干预作用相关代谢通路 5 条，涉及关键代谢物 7 个，参与半胱氨酸和蛋氨酸代谢、果糖和甘露糖代谢。且甘草及其活性成分均可调节 3-甲基-2-氧代丁酸、4-甲基-2-氧代戊酸酯、D-果糖、D-葡萄糖、D-甘露糖等代谢物，参与缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、半乳糖代谢等通路。上述研究表明，甘草及其活性成分对 CP 肾损伤大鼠的肾功能具有保护作用，并且可能通过调节氨基酸代谢、糖代谢等途径改善 CP 肾损伤大鼠的内源性代谢紊乱。

关键词：顺铂；肾损伤；甘草酸铵；甘草次酸；代谢组学

## 虫草素缓解非酒精性脂肪肝的机制探索

田海英<sup>1</sup>，孙晓东<sup>2\*</sup>

1. 四川大学华西公共卫生学院华西第四医院，四川 成都，610041

2. 四川大学华西基础医学与法医学院，四川 成都，610041

目的 探究虫草素缓解非酒精性脂肪肝（Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD）的机制。方法 ① 4 周龄，体重在  $15 \pm 2$  g 范围内 C57BL/6 雄鼠高脂饲料（High fat diet, HFD）喂养 3 个月构建 NAFLD 模型。模型成功鼠随机分为 4 组，即为 HFD 组、15 mg/kg 药物组、30 mg/kg 药物组、45 mg/kg 药物组。通过灌胃给药的方式对小鼠进行虫草素治疗（每 10 g 给予 0.1 mL 溶液），每日一次，HFD 组给予配制药物时所使用的溶剂即 0.5% CMC-Na，持续 1 个月。对照组始终给予正常饲料（ $n=10$ ）。收集小鼠肝组织，HE 染色、油红 O 染色、免疫组化等方法检测脂滴聚集和脂质代谢相关情况。② 人正常肝细胞 L02 细胞普通培养基培养（RPMI+8%FBS）为对照组，150  $\mu$ M 油酸钠（溶于普通培养基）处理 24 h 诱导细胞脂滴聚集为 NAFLD 组，NAFLD 组分别用 0, 0.12, 0.37, 1.1, 3.3, 10  $\mu$ M 虫草素（溶于普通培养基）处理 24 h。尼罗红实验检测细胞内脂滴聚集情况。蛋白免疫印记检测脂质代谢相关因子（SREBP1, SREBP2、CPT1 $\alpha$ ）、自噬相关因子（ATG7、LC3、P62 等）及线粒体相关蛋白（TOMM20、COXIV）的表达量。免疫荧光鉴定自噬流、线粒体自噬等是否被促进。敲降 AMPK、Parkin，验证虫草素是否通过其发挥作用。结果 ① 与对照组相比，HFD 组小鼠肝脏细胞普遍疏松、水肿，胞质内可见多个大小不等的空泡，可见气球样变细胞。与 HFD 组相比，HFD+虫草素组小鼠肝脏细胞致密，脂质空泡数量明显减少，肝脏状态趋近正常小鼠。② L02 细胞实验中，与对照组相比，NAFLD 组细胞内脂质明显积聚，且脂滴较大；脂质合成增加，脂质代谢减少；同时自噬受到抑制，线粒体出现显著的核周聚集，数量减少，片段化更严重。与 NAFLD 组相比，NAFLD+虫草素组，脂质聚集情况减弱，脂质合成相关蛋白表达下调，脂质代谢相关蛋白上调。促进自噬且保持自噬流畅通，线粒体极化分布，数量增多，少有片段化的线粒体。但是敲降 AMPK 与 Parkin 后，虫草素的作用受到抑制。结论 虫草素的保护机制依赖于 AMPK 的激活，从而促进细胞自噬和 Parkin 相关线粒体自噬。并维持线粒体正常形态与分布，降低细胞内脂滴聚集，缓解 NAFLD。

关键词：NAFLD；虫草素；AMPK；Parkin；线粒体

## MyD88 诱饵肽激活非典型自噬保护细菌脓毒症小鼠的作用和机制研究

王攀<sup>1</sup>, 朱婷<sup>1</sup>, 岑彦艳<sup>1\*</sup>, 潘夕春<sup>1,\*</sup>

1. 陆军军医大学药学与检验医学系药理学教研室, 重庆, 400038

脓毒症是机体因急性感染引起的宿主反应失调所致的危及生命的器官功能障碍, 死亡率高达 30%—70%, 但至今仍无有效治疗药物。在细菌脓毒症的病理生理过程中, 关键在于有效抗菌的同时促进细菌清除, 而巨噬细胞的抗菌性自噬与清除病原体有关, 被认为是有效的脓毒症干预靶点。前期发现, 髓分化因子 88 (Myeloid differentiation factor 88, MyD88) 诱饵肽 D3 可促进巨噬细胞吞噬和清除细菌从而保护大肠杆菌攻击脓毒症小鼠, 该作用与上调髓分化因子 88 激活巨噬细胞非典型自噬 (non-canonical autophagy) 相关, 因此本研究拟探讨 D3 的作用机制。首先, 通过 MyD88 敲除小鼠, 共定位, 免疫沉淀及亲和力等试验证实并讨论了 D3 与 MyD88 的相互作用; 其次, 采用免疫沉淀结合 siRNA 干扰, 确认参与 D3 作用的 MyD88 衔接蛋白; 同时, 采用 siRNA 干扰结合免疫印迹和共定位, 确认参与 D3 作用的 III 型磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K-III) 复合物和 NADPH 氧化酶 2 (NOX2) 复合物成员; 最后, 采用体内荧光示踪及共定位, 确认参与 D3 作用的 MyD88-非典型自噬通路重要分子。研究结果表明, MyD88 为诱饵肽 D3 的直接作用靶点, 其通过特异性结合 MyD88 ( $K_D = 29.4 \mu\text{M}$ ), 促进大肠埃希菌 (*Escherichia coli*) 招募 MyD88, 继而招募包括白介素受体相关激酶 4 (IRAK4)、肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6), 及 PI3K-III 复合物 (关键分子为 PI3K-III、Beclin1)、Nox2 复合物 (关键分子为 Nox2) 及二者共同成员 Rubicon 在内的下游衔接蛋白, 从而上调巨噬细胞非典型自噬, 促进对细菌的吞噬和清除, 最终为大肠埃希菌攻击小鼠提供有效保护。本研究在巨噬细胞中阐明了靶向 *E. coli* 的非典型自噬关键环节及核心分子, 并探讨诱饵肽 D3 通过 MyD88 上调巨噬细胞非典型自噬从而保护脓毒症小鼠的分子机制, 为防治脓毒症提供候选药物。

关键词: 脓毒症; 髓分化因子 88; 巨噬细胞; 非典型自噬

## 基于网络药理学探讨墨旱莲石油醚提取物对化疗性脱发的作用及机制

王无忌<sup>1</sup>, 李晶洁<sup>1\*</sup>

1. 遵义医科大学, 贵州 遵义, 563000

目的: 探讨墨旱莲石油醚提取物 (petroleum ether extract of *Eclipta*, PEE) 对化疗性脱发 (chemotherapy-induced alopecia, CIA) 和毛囊损伤的影响, 并结合网络药理学、生物信息学和实验验证阐明其对于化疗性脱发潜在的治疗机制。



方法：1. 采用 UHPLC—MS 测定 PEE 中的成分。此外，网络药理学和分子对接将用于识别 PEE 中的关键成分并研究潜在的途径。2. 体内实验：C57BL/6 小鼠随机分为四组：对照组、环磷酰胺组（CYP）、低剂量 PEE+CYP 组（L—PEE+CYP）、高剂量 PEE+CYP 组（H—PEE+CYP）。在研究过程中观察小鼠毛发生长状况和肤色变化，拍摄照片并评分。随后进行苏木精—伊红（H&E）染色、免疫组化染色，观察 CYP 诱导的化疗脱发小鼠毛囊结构变化以及 Cleaved caspase—3 和 9 的表达。免疫印迹法检测小鼠皮肤中与细胞凋亡相关的 P53、Bcl—2、Bax、Cleaved caspase—9、Fas、Caspase—3 和 8 的表达水平。3. 体外实验：分别检测引起细胞损伤的 CYP 活性代谢物 4—羟基环磷酰胺（4—HC）浓度、PEE 浓度以及 PEE 预处理对 4—HC 损伤后的 HaCaT 细胞活力的影响。荧光显微镜观察 4—HC 处理后的 TUNEL 阳性 HaCaT 细胞，同时检测 4—HC 处理后 HaCaT 细胞中 Cleaved caspase—3 和 8 的表达变化。

结果：1. UHPLC—MS 分析显示 PEE 中存在 185 种成分。通过网络药理学构建出 20 种潜在活性化合物的“成分—疾病”蛋白质—蛋白质相互作用（PPI）网络。结果表明，TP53、ESR1、AKT1、IL6、TNF、EGFR 是网络中的核心基因，主要参与 PI3K/AKT、MAPK、TNF 等通路，且均与凋亡调节相关。分子对接结果表明，蟛蜞菊内酯与 PPI 网络中的核心目标分子表现出良好的结合力，表明其是一种潜在的主要活性化合物。2. 体内实验结果显示：根据背部毛发生长的面积和长度来评估小鼠的毛发生长，PEE 治疗组的评分显著高于 CYP 组。组织学分析显示，CYP 导致毛囊数量减少，受损毛囊比例增加。此外，在毛囊中观察到大量凋亡细胞。PEE 治疗使毛囊数量恢复，受损毛囊和凋亡细胞的比例显著降低，毛囊中 Cleaved caspase—3 和 9 的表达显著降低。经 200 和 400 mg/kg PEE 预处理后，CIA 小鼠背部皮肤促凋亡蛋白 P53、Fas、Bax、Caspase—8、Cleaved caspase—3 和 9 的表达显著下调，而抗凋亡蛋白 Bcl—2 的表达与 CYP 组相比显著上调。3. 体外实验结果显示：10  $\mu$ M 浓度的 4—HC 对 HaCaT 细胞造成明显损伤。PEE 在 0.1—20  $\mu$ g/mL 浓度范围内能增强 HaCaT 细胞的活力。PEE 预处理能使 HaCaT 细胞在 4—HC 处理后恢复细胞活力，同时降低了 TUNEL 阳性细胞的平均荧光强度，并显著降低 HaCaT 细胞中 4—HC 诱导的 Cleaved caspase—3 和 8 的表达。

结论：利用网络药理学和分子对接预测 PEE 可能通过抑制 P53 诱导的细胞凋亡发挥保护作用，而 WED 可能是其中的关键成分。通过 C57BL/6 小鼠 CIA 模型和 4—HC 诱导的 HaCaT 细胞模型，发现 PEE 可以缓解 CYP 诱导的小鼠脱发损伤，减少 4—HC 诱导的 HaCaT 细胞死亡，其保护机制可能涉及 p53/Fas 通路的抑制。

关键词：化疗性脱发；p53；凋亡；墨旱莲；网络药理学

## LSD1/Tubulin 双靶点抑制剂 1949 抗胃癌机制研究

王子月<sup>1</sup>，伍忌<sup>1</sup>，刘秋阁<sup>2</sup>，贾美琪<sup>2</sup>，金成允<sup>1\*</sup>，张赛扬<sup>2\*</sup>

1. 郑州大学药物研究院，河南 郑州，450001

2. 郑州大学基础医学院，河南 郑州，450001

目的：在前期实验结果的基础上，本课题利用分子拼接原理将苯环丙胺抗肿瘤活性药效团拼合到芳基酰胺骨架上，设计合成了 LSD1/Tubulin 双靶点抑制剂 1949，对其进行体外抗肿瘤机制研究和体内抗肿瘤机制研究。

方法：采用 MTT 比色法、细胞集落形成实验检测其体外抗肿瘤活性；碱性蛋白酶实验验证化合物 1949 是否与 LSD1 靶点结合；酶活性检测实验验证化合物 1949 是否抑制 LSD1；蛋白免疫印迹实验检测 LSD1 的底物蛋白水平变化；碘乙酰胺竞争结合实验（EBI）、体外微管蛋白聚合实验验证化合物 1949 是否抑制微管蛋白活性。裸鼠种植瘤模型检测其体内抗肿瘤活性。

结果：MTT 比色法和生长曲线及细胞集落形成实验的结果显示化合物 1949 能够降低胃癌细胞存活率，且对人正常胃黏膜上皮细胞 GES-1 毒性较小；碱性蛋白酶实验表明化合物 1949 能够靶向作用于 LSD1，二者有良好的亲和力。酶活性检测实验表明化合物 1949 以剂量依赖的方式抑制 LSD1 活性，是有效的 LSD1 抑制剂。蛋白免疫印迹实验结果显示化合物 1949 通过抑制 LSD1 活性，抑制其去甲基化活性，致使 H3K4 单双甲基化底物蛋白水平升高。用荧光分子标记微管蛋白，进行体外微管蛋白聚合实验，结果表明化合物 1949 能够抑制微管蛋白聚合。EBI 可以和微管蛋白的秋水仙碱位点结合，在蛋白印记实验结果  $\beta$ -Tubulin 主条带的下方呈现一个加和条带，加和条带颜色越深表明 EBI 和秋水仙碱位点亲和力越强，化合物和微管蛋白结合能力越弱，反之则表明化合物和秋水仙碱位点亲和力越强，化合物 1949 以剂量依赖的方式竞争性地结合秋水仙碱位点，抑制微管蛋白聚合。经化合物 1949 治疗的小鼠体重无明显变化，血清中各项肝肾指标与对照组无明显差异，在体内没有表现出明显的毒性，具有良好的体内安全性。化合物 1949 能够有效降低肿瘤瘤块体积和重量，明显抑制肿瘤瘤块的生长，有良好的抗肿瘤活性。

结论：化合物 1949 是有效的 LSD1/Tubulin 双靶点抑制剂，并具有良好的抗肿瘤活性且在体内具有良好抗肿瘤活性和安全性，与体外实验结果一致。从而期望为新药开发及联合治疗方案提供研究依据与理论支持。

关键词：LSD1；Tubulin；双靶点抑制剂；胃癌

## 藏药仁青常觉抑制乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用及机制研究

吴思琪<sup>1,2</sup>, 吕雅心<sup>1,2</sup>, 胡怡婷<sup>1,2</sup>, 陈怡宏<sup>1,2</sup>, 赵勤<sup>1,2\*</sup>

1. 西藏藏医药研究中心藏药活性成分及药理机制研究联合实验室, 陕西 咸阳, 712082

2. 西藏民族大学藏药检测技术教育部工程研究中心, 陕西 咸阳, 712082

目的: 探讨藏药仁青常觉对三阴性乳腺癌 (TNBC) 细胞 MDA-MB-231 增殖抑制作用及潜在分子机制。方法: (1) 仁青常觉抗乳腺癌活性部位筛选: 制备仁青常觉醇提物、乙酸乙酯、及正丁醇等萃取部位, 通过 CCK8 法, 检测对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的作用时间及 IC<sub>50</sub>, 筛选仁青常觉抗人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞活性部位。(2) 仁青常觉乙酸乙酯部位对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的作用及机制研究: 克隆形成实验检测仁青常觉乙酸乙酯部位对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖能力的影响; 划痕实验实验检测仁青常觉乙酸乙酯部位对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞迁移能力的影响; 分别通过显微镜形态观察、Hoechst 染色、流式细胞术、线粒体膜电位检测仁青常觉乙酸乙酯部位对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡影响; 流式细胞术检测对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞各生长周期的影响。通过 qPCR 法检测仁青常觉乙酸乙酯部位对 PI3K、AKT、mTOR、Beclin-1 mRNA 表达的影响, Western Blot 法检测 PI3K、AKT、mTOR、Beclin-1 蛋白的表达, 验证仁青常觉乙酸乙酯部位的抗乳腺癌作用及机制。结果: (1) 仁青常觉抗乳腺癌活性部位筛选: 仁青常觉醇提物、乙酸乙酯部位、正丁醇部位作用于人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞 24h、48h、72h, 48 小时效果最好, IC<sub>50</sub> 值浓度为: 69.9 μg/ml, 故后续选取仁青常觉乙酸乙酯部位作用于人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞 48 小时开展体外实验, 选取浓度为 40 μg/mL、80 μg/mL、120 μg/mL。(2) 在克隆形成实验中, 随着仁青常觉乙酸乙酯部位浓度升高, 集落形成数显著减少 ( $P < 0.05$ )。划痕实验证明仁青常觉乙酸乙酯部位能够抑制细胞迁移 ( $P < 0.01$ )。仁青常觉乙酸乙酯部位可使 MDA-MB-231 细胞形态发生改变, 出现核固缩、碎裂象; 利用流式细胞术和激光共聚焦发现仁青常觉乙酸乙酯部位能促进三阴性乳腺癌细胞线粒体损伤和促进细胞晚期凋亡率, 给药组与空白组有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 并将乳腺癌细胞阻滞于 S 期。q-PCR 结果显示仁青常觉乙酸乙酯部位可降低 PI3K、AKT、mTOR mRNA 水平 ( $P < 0.05$ ), 升高 Beclin-1 水平 ( $P < 0.05$ )。Western blot 实验检测结果显示仁青常觉乙酸乙酯部位能显著促进 MDA-MB-231 细胞的自噬蛋白 Beclin-1 表达 ( $P < 0.05$ ), 抑制 PI3K、AKT、mTOR 蛋白表达 ( $P < 0.05$ )。结论: 仁青常觉乙酸乙酯部位可能通过抑制 mTOR/PI3K/AKT 信号通路, 抑制 MDA-MB-231 细胞增殖和迁移, 从而诱导细胞发生自噬和凋亡。

关键词: 三阴性乳腺癌; 增殖; 自噬; 凋亡

## 新型芳酰胺类微管蛋白抑制剂 1121 的抗肝癌机制研究

伍忌<sup>1</sup>, 王子月<sup>1</sup>, 胡高美<sup>2</sup>, 刘秋阁<sup>2</sup>, 付向晶<sup>1\*</sup>, 张赛扬<sup>2\*</sup>

1. 郑州大学药学院, 河南 郑州, 450001

2. 郑州大学基础医学院, 河南 郑州, 450001

基于本课题组已有研究成果, 我们设计合成了含有哌嗪基团的新型芳酰胺类微管蛋白抑制剂 1121, 并验证其对于肝癌细胞的抗增殖作用。化合物 1121 对肝癌细胞具有明显的抑制作用, 其对 SMMC-7721 和 HuH-7 细胞的 48 h  $IC_{50}$  值分别为 89.42 nM 和 91.62 nM。通过与微管蛋白聚合抑制剂秋水仙碱和微管稳定剂紫杉醇对比, 表明化合物 1121 能够抑制微管蛋白的聚合, 这与秋水仙碱的作用一致。通过进一步机制研究表明, 化合物 1121 可以结合  $\beta$ -微管蛋白的秋水仙碱结合位点, 直接作用于  $\beta$ -微管蛋白, 从而抑制微管蛋白的聚合。

在验证了化合物 1121 对微管蛋白聚合的抑制作用后, 我们进一步探讨了化合物 1121 对肝癌细胞 SMMC-7721 和 HuH-7 增殖的影响。我们发现化合物 1121 对 SMMC-7721 和 HuH-7 细胞的细胞周期具有较强的阻滞作用, 两种肝癌细胞的 G2/M 期细胞百分比分别增加了 40% (SMMC-7721) 和 57% (HuH-7), 表明化合物 1121 在 G2 期阻滞了 SMMC-7721 和 HuH-7 细胞周期。我们进一步通过集落形成实验研究了化合物 1121 对 HuH-7 细胞集落形成能力的影响。低剂量化合物 1121 处理细胞 7 天后, 细胞形成集落的能力受到浓度依赖性的抑制, 并且集落数量也以浓度依赖性的方式显著减少。Western blotting 进一步检测化合物 1121 对细胞周期调控蛋白表达的影响。在蛋白水平上, 化合物 1121 诱导 G2 期相关蛋白 p-cdc2 表达下调, M 期标志蛋白 p-Histone H3 表达上调。

肿瘤细胞周期阻滞和增殖抑制有可能引发细胞凋亡的发生。因此, 我们研究了化合物 1121 对肝癌细胞 SMMC-7721 和 HuH-7 凋亡的影响。化合物 1121 作用 48 h 后, SMMC-7721 和 HuH-7 细胞的凋亡率均接近 70%, 可见化合物 1121 对肝癌细胞具有明显的诱导凋亡作用。采用 Western blotting 进一步检测化合物 1121 对凋亡相关蛋白的影响, 我们发现化合物 1121 导致抗凋亡蛋白 Bcl-xL 的表达降低, 细胞凋亡执行子 cleaved-Caspase7 及其剪切底物 cleaved-PARP 的表达增加, 使肝癌细胞阻滞于 G2 期, 诱导细胞凋亡。由此可见, 化合物 1121 通过抑制微管蛋白聚合诱导肝癌细胞凋亡, 使一种非常有潜力的微管蛋白抑制剂。

关键词: 微管蛋白抑制剂; 肝癌; 抗肿瘤

## 吡罗昔康对糖尿病溃疡的治疗作用及机制探索

谢腾

四川大学华西药学院, 四川 成都, 610044

目的 了解吡罗昔康对糖尿病溃疡 (DFU) 是否具有治疗作用并探索相关机制。方法 ① 4 周龄 C57BL/6 雄鼠或去势雌鼠正常饲料喂养 3 个月后连续 5 天注射柠檬酸钠缓冲液 (5 mL/kg) 为对照组 (n=10)。高脂饲料喂养 3 个月后连续 5 天腹腔注射链脲佐菌素 (STZ, 50 mg/kg), 血糖平衡 2 周后血糖达标小鼠 (空腹血糖 > 11.1 mmol/L) 为糖尿病组。将糖尿病组小鼠分为 DFU 组 (n=10) 和 DFU+吡罗昔康组 (n=10)。各组小鼠背部脱毛打孔, 每日为对照组及 DFU 组涂抹生理盐水, DFU+吡罗昔康组涂抹吡罗昔康药液, 隔日对背部创面拍照至创面基本愈合, 最后收集创面四周皮肤组织。HE 染色、天狼星红染色、免疫组化等方法检测创面愈合及炎症情况。② 角质形成细胞 HaCaT 细胞普通培养基培养 (MEM+10% FBS) 为对照组, 50 mM 葡萄糖 (溶于普通培养基) 处理 24 h 诱导细胞应激为 DFU 组, DFU 组分别用 0, 0.04, 0.11, 0.33, 1.00  $\mu$ M 吡罗昔康 (溶于 50 mM 葡萄糖) 处理 24 h, 划痕实验检测细胞迁移效率。蛋白免疫印记检测炎症因子 (IL-1 $\beta$ , IL-18)、抗氧化蛋白 (SOD1、SOD2) 及线粒体自噬 (LC3)、分裂 (DRP1)、融合 (MFN1, MFN2) 相关蛋白表达量。结果 ① 与对照组相比, DFU 组创面愈合速度显著下降 ( $P < 0.01$ )。DFU 组创面附近促炎细胞因子、炎症细胞及胶原沉积增加。与 DFU 组相比, DFU+吡罗昔康组创面愈合速度显著增加 ( $P < 0.01$ )。DFU+吡罗昔康组创面附近炎症缓解, 胶原沉积减少。② HaCaT 细胞实验中, 与对照组相比, DFU 组划痕闭合速度显著降低 ( $P < 0.05$ )。炎症、氧化应激及线粒体融合相关蛋白表达量增多, 线粒体自噬及分裂相关蛋白表达量减少。与 DFU 组相比, DFU+吡罗昔康组划痕闭合速度显著增加 ( $P < 0.05$ )。炎症、氧化应激及线粒体融合相关蛋白表达量减少, 线粒体自噬及分裂相关蛋白表达量增多。结论 吡罗昔康可能通过维持线粒体稳态缓解氧化应激, 减轻炎症, 从而加速糖尿病溃疡创面愈合。

关键词: 糖尿病溃疡; 吡罗昔康; 炎症; 氧化应激; 线粒体

## AT 诱导乳腺癌细胞向脂肪细胞转分化的作用研究

张静<sup>1,\*</sup>, 潘燕<sup>2, #</sup>

1. 内蒙古医科大学分子生物学重点实验室, 内蒙古 呼和浩特, 010059

2. 北京大学基础医学院药理学系, 北京, 100191

背景和目的: 乳腺癌是导致女性死亡最常见的癌症, 也是仅次于肺癌的第二大癌症。目前临床上治疗乳腺癌最常采用的方法有手术、放射治疗、化疗、激素治疗以及 HER2 靶向治疗等。但是其中乳腺癌干细胞具有自我更新和无限增殖的干性特征, 是乳腺癌治疗效果差、肿瘤复发以及发生耐药性等情况的重要原因之一。这使得现有手段并不足以解决乳腺癌的临床治疗问题, 且大多数乳腺癌患者预后不理想。因此, 寻找针对肿瘤干细胞特性的新治疗方法十分必要。分化诱导疗法利用肿瘤细胞干性特征, 采用化学药物或者基因编辑手段诱导肿瘤细胞分化为正常或接近正常的细胞, 降低肿瘤细胞恶性度, 达到治疗癌症、减少耐药的目的。该方法疗效好、毒副作用低。我们采用乳腺癌细胞和脂肪细胞的全面差异基因数据, 应用深度学习高效药物预测系统 (DLEPS) 筛选具有诱导乳腺癌细胞分化成脂肪细胞的候选化合物, 并利用体内外乳腺癌模型, 验证候选化合物的脂肪转分化诱导作用, 探究其脂质调节和脂肪转分化的分子机制。为乳腺癌提供新的治疗思路和脂肪转分化诱导的治疗策略, 发现诱导乳腺癌肿瘤细胞转分化为脂肪细胞的有效治疗药物。

方法: 我们利用 GEO2R 通过 DLEPS 系统筛选出可能诱导乳腺肿瘤细胞向脂肪细胞转化的 49 个具有潜在活性的化合物, 我们选取了前 10 种化合物进行探究。我们通过化合物诱导乳腺癌 MCF-7 细胞 9 天后, 利用尼罗红染色检测肿瘤细胞中脂滴形成的情况; 利用流式细胞术检测肿瘤细胞表面抗原 CD44 和 CD24 的水平; qRT-PCR 法检测肿瘤细胞中干性标志物 CD44、SOX2、ZEB1、OTC4 以及脂肪细胞标志物 PPAR- $\gamma$ 、C/EBP $\alpha$  和 FABP4 的 mRNA 水平; 采用 CCK-8 细胞增殖实验分析诱导后肿瘤细胞增殖特性的变化情况。

结果: 经 DLEPS 系统筛选得到 10 种化合物具有潜在的诱导乳腺肿瘤细胞转分化的作用。通过体外 MCF-7 乳腺癌细胞尼罗红染色实验发现, 1、3 和 10  $\mu$ M 化合物 AT 能够剂量依赖性地促进肿瘤细胞中脂滴的生成; 流式细胞术检测细胞表面 CD44、CD24 水平, 结果显示 AT 处理后, 肿瘤细胞表面抗原 CD24 水平显著上调, CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>+</sup> 细胞比例显著减少, 表明肿瘤细胞干性减弱, 可能存在细胞分化, 符合肿瘤细胞分化为脂肪细胞的趋势; 通过 qRT-PCR 实验发现, 3  $\mu$ M 剂量的 AT 可以显著下调肿瘤干细胞标志物 CD44、SOX2 和 ZEB1 的 mRNA 水平 ( $p < 0.05$ ), 显著上调脂肪细胞标志物 PPAR- $\gamma$ 、C/EBP $\alpha$  和 FABP4 的 mRNA 水平 ( $p < 0.05$ ); AT (1、3、10、30、100  $\mu$ M) 诱导后的 MCF-7 细胞增殖特性显著降低 ( $p < 0.05$ )。

结论: AT 具有诱导乳腺癌细胞向脂肪细胞分化的作用。

关键词: 乳腺癌; 脂肪细胞; 分化; 肿瘤干细胞

## 黄芩苷干预 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路促进毛发再生的作用及机制研究

张仕倩<sup>1</sup>，李晶洁<sup>2</sup>，李征<sup>1\*</sup>

1. 遵义医科大学基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室，

贵州 遵义，563000

目的：探究黄芩苷（Baicalin, BAI）对毛发再生的促进作用及作用机制。

方法：本研究利用雌性 C57BL/6J 小鼠建立毛发再生均一化模型，通过不同时间点的皮肤毛囊发育影像和外观评分，评估毛囊发育情况。组织学分析采用苏木素伊红（H&E）染色，计算毛囊数量、长度、直径和皮肤厚度；结合网络药理学和实验验证，探索 BAI 促进毛发生长的靶点蛋白和信号通路；使用 Western Blot 检测 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路相关蛋白表达，并通过 LPS 诱导的体外炎症模型，验证 BAI 的抗炎作用；利用分子对接、靶点稳定性实验（DARTS）、细胞热转移分析（CETSA）和等温剂量反应（ITDRF）技术评估 BAI 与 CD14 的分子间相互作用；通过构建 CD14 沉默的 HaCaT 细胞模型，观察 BAI 对 LPS 诱导炎症反应的影响。

结果：动物实验显示 BAI 能浓度依赖性地促进小鼠毛囊提前进入生长期；组织学检测发现 BAI 处理组的毛囊数量、长度、直径和皮肤厚度显著增加。网络药理学分析揭示炎症因子如 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  在 BAI 促进毛发生长中的重要性；GO 和 KEGG 分析表明 BAI 通过调节炎症通路促进毛发再生，特别是 Toll 样受体和 NF- $\kappa$ B 信号通路；WB 实验显示 BAI 显著降低了小鼠 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路相关蛋白的表达。CCK-8 结果表明 BAI 逆转了 LPS 对 HaCaT 细胞和 DPCs 的抑制增殖作用；EdU 和划痕实验证实了 BAI 对 HaCaT 细胞增殖和迁移能力的促进作用；IF 检测结果显示 BAI 抑制了 LPS 诱导的 NF- $\kappa$ B p65 核转位及 CD14 的表达；WB 结果显示 BAI 显著下调了 HaCaT 细胞和 DPCs 内 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路相关蛋白的表达。RT-qPCR 结果显示 BAI 降低了 LPS 刺激下 HaCaT 细胞中 CD14 的 mRNA 表达；分子对接分析和靶点稳定性实验表明 BAI 与 CD14 有稳定的结合；在 CD14 沉默的 HaCaT 细胞中，BAI 失去了抗炎作用，无法抑制 LPS 诱导的 NF- $\kappa$ B p-p65 活化和炎症因子增加。

结论：研究表明，BAI 通过与 CD14 发生分子间相互作用进而抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的活化，发挥抗炎作用并促进毛发再生。本研究为 BAI 应用于毛发再生相关产品的开发提供了实验依据。

关键词：黄芩苷；毛发再生；CD14；TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路；毛囊

## 转录因子 MYCN 激活 BMI1 转录调控人卵巢癌细胞氨甲喋呤耐药进程

张莹

哈尔滨医科大学药学院药理教研室, 黑龙江 哈尔滨, 150086

目的: 探究转录因子 MYCN 对人卵巢癌细胞氨甲喋呤耐药的影响及调控机制。方法: UACC-1598, A2780 细胞株为临床常见的卵巢癌细胞, 本课题组通过单克隆筛选构建两株细胞对应的氨甲喋呤耐药细胞系 (UACC-1598-4, A2780-D) 作为研究对象。通过 CCK8 法检测细胞活力, 平板克隆和 5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷 (EdU) 实验检测细胞的增殖能力, 赫斯特染色 (Hoechst) 法观察细胞凋亡情况, 细胞划痕实验和 Transwell 实验评估细胞的迁移和侵袭能力, Western blot (WB) 和定量逆转录 PCR (RT-qPCR) 法检测 MYCN, 靶基因多梳蛋白复合体 (Polycomb complex protein, BMI-1), 上皮-间质转化 (EMT) 的相关蛋白和 mRNA 的表达差异。并通过特异性敲减及回复实验验证 MYCN 及 BMI1 在耐药进程中作用。通过 Chip-seq 及荧光素酶报告基因实验证实 MYCN 与 BMI1 启动子区结合激活 BMI1 转录。结果: 与 UACC-1598, A2780 细胞相比, UACC-1598-4, A2780-D 细胞的耐药指数显著升高 ( $P < 0.05$ ), 细胞凋亡水平、抑制细胞的增殖迁移和侵袭能力显著升高 ( $P < 0.05$ )。WB 结果显示, 与 UACC-1598, A2780 细胞相比, 耐药组细胞中 MYCN 及 BMI1 的蛋白水平相对比值以及 EMT 相关标志性基因显著上调 ( $P < 0.01$ ); 对 MYCN 敲减后, BMI1 表达量下调, 耐药相关表型缓解, 给与 BMI1 过表达后, 耐药相关表型回复。Chip-seq 及荧光素酶报告基因证实 MYCN 与 BMI1 启动子区结合。结论: 转录因子 MYCN 与 BMI1 启动子区结合激活 BMI1 转录调控卵巢癌细胞氨甲喋呤耐药进程。

关键词: MYCN; 转录因子; 卵巢癌; 耐药

## 阿替利珠单抗联合贝伐珠单抗在治疗晚期肝癌中的应用

张珍珍<sup>1</sup>, 刘吉莉<sup>1</sup>, 焦胜春<sup>2\*</sup>

1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子, 832000

2. 石河子大学第一附属医院药学部, 新疆 石河子, 832000

癌症是世界范围内主要的公共卫生问题, 2019 年冠状病毒病 (COVID-19) 大流行导致医疗服务延迟, 原因是医疗机构关闭、就业和健康保险中断以及对接触 COVID-19 的恐惧<sup>[1]</sup>。癌症的诊断和治疗服务出现了重大延误可能导致各种晚期疾病和死亡率的上升<sup>[2]</sup>, 肝癌也不例外。肝癌是一种极具侵袭性侵袭性和恶性的肿瘤, 目前是 46 个国家癌症死亡的三大原因之一, 也是



90 个国家癌症死亡的五大原因之一<sup>[3]</sup>，成为威胁人类健康的主要疾病之一。我国肝癌病例占全球的五分之一，发病率在 50% 以上<sup>[4]</sup>，2020 年我国原发性肝癌新发病例数 410038 例，占全球的 45.27%；死亡病例数 391152 例，占全球的 47.12%<sup>[5]</sup>。肝癌的主要潜在危险因素是肝硬化，主要由慢性乙型或丙型肝炎病毒（HBV/HCV）感染引起。黄曲霉毒素暴露、大量饮酒、肥胖、糖尿病和非酒精性脂肪肝是导致肝硬化的慢性炎症的其他原因，肝硬化可能进展为肿瘤转化<sup>[6]</sup>，由于其高度侵袭性和易转移性，经常被诊断为晚期肝癌。在其管理过程中，常见的肝癌治疗手段如手术切除、消融治疗、化疗及放射治疗<sup>[7]</sup>，虽然取得了一定的疗效，但对晚期肝癌患者的治疗效果仍不尽人意。近年来，随着肝癌分子生物学的研究和多靶点治疗的发展，生物制剂作为新型抗肿瘤药物，具有独特的作用机制和治疗优势，逐渐引起了临床医生和研究者的关注。阿替利珠单抗和贝伐珠单抗作为目前临床上较为成熟的生物制剂，被广泛应用于各种恶性肿瘤的治疗中。并且在最近的研究中，阿替利珠单抗联合贝伐珠单抗用于肝癌治疗取得的良好疗效，进一步加深对其临床应用的研究。

肝癌是全球最具侵袭性的恶性肿瘤之一，在世界范围内，肝癌的发病率和死亡率一直居高不下。对于晚期肝癌患者，化疗和靶向治疗已成为主要治疗手段。然而，晚期肝癌的治疗仍具有较大的挑战性。阿替利珠单抗联合贝伐珠单抗治疗肝癌晚期是目前研究的热点。该文通过对相关文献的搜集和分析，总结了阿替利珠单抗联合贝伐珠单抗在肝癌晚期治疗中的疗效、安全性及作用机制等方面的研究进展和临床应用现状，旨在提供有助于临床实践及未来研究的参考和指导。阿替利珠单抗联合贝伐珠单抗是一个有前途的肝癌晚期治疗方案，具有极高和良好的生物学和临床疗效，在医疗实践中应得到更广泛的应用。需要强调的是，该疗法的优势来自于恰当和有效的治疗管理过程，因此，需要熟悉该疗法的规范使用，方可发挥其最大的疗效。其次，在使用过程中需要注意安全性问题，包括过敏反应、感染和免疫抑制、眼部毒性等问题，并采取控制和监测措施，以确保对患者的最佳疗效和安全性。

关键词：晚期肝癌；阿替利珠单抗；贝伐珠单抗

## 奥替溴铵通过阻碍麦角甾醇质膜定位并诱导白念珠菌毒性自噬发挥抗真菌活性

甄诚，鹿辉\*，姜远英\*

同济大学医学院附属第十人民医院，上海，200092

实验目的：开发新的抗真菌药物并鉴定新的抗真菌靶点将有助于扩大有限的抗真菌药物库存并遏制药物耐药性的出现。为了满足对新型抗真菌药物的需求，我们对 FDA 批准的化合物库（HY-L022，MCE®）进行了高通量筛选，并鉴定出了一种有前途的领先抗真菌化合物——奥

替溴铵。

实验方法：运用高通量筛选的方法检测 FDA 批准化合物库的抗真菌活性；肉汤微稀释法检测奥替溴铵的抗真菌谱；RNA—Seq 分析奥替溴铵作用后白念珠菌的转录组表达情况；GC—MS 法检测奥替溴铵作用后白念珠菌细胞总麦角甾醇的含量变化；Filipin 染色激光共聚焦检测奥替溴铵作用后麦角甾醇的分布情况；药物亲和力响应靶标稳定性法（DARTS）鉴定奥替溴铵的靶点蛋白；激光共聚焦检测奥替溴铵作用后麦角甾醇转运蛋白 Sip3 的定位；Spot assay 检测奥替溴铵对麦角甾醇转运、囊泡运输和自噬相关基因缺失菌的敏感性；激光共聚焦检测奥替溴铵作用后指征自噬小体生成蛋白 Atg8 的定位；Western Blot 检测奥替溴铵对 Atg8 蛋白表达量的影响；罗丹明 6G 外排法检测奥替溴铵对白念珠菌外排功能的影响；激光共聚焦检测奥替溴铵作用后膜蛋白 cdr1 的定位。

实验结果：奥替溴铵是 FDA 批准的药物中最有前途的抗真菌分子。奥替溴铵具有广谱的抗真菌活性，对白念珠菌的最小抑菌浓度（MIC<sub>50</sub>）低至 1 μg/mL。通过 RNA—Seq 分析和麦角甾醇剂量滴定实验发现奥替溴铵发挥抗真菌活性与麦角甾醇的含量密切相关。然而，GC—MS 实验结果表明奥替溴铵作用后的白念珠菌胞内总麦角甾醇的含量与对照组相比并没有统计学差异。进一步使用 filipin 对麦角甾醇进行染色后发现奥替溴铵作用使白念珠菌细胞膜上的麦角甾醇减少，胞内麦角甾醇含量增加，后经 Spot assay 实验验证奥替溴铵对麦角甾醇转运基因缺失菌有敏感性变化。DARTS 结果表明，奥替溴铵可以结合参与囊泡运输的蛋白 Sec31。激光共聚焦检测荧光标记蛋白 Sip3 和内质网共定位的结果表明，奥替溴铵对囊泡运输蛋白 Sec31 的抑制，影响了麦角甾醇转运蛋白 Sip3 的质膜定位，使得 Sip3 滞留在内质网，影响麦角甾醇从内质网到细胞膜上的转运。激光共聚焦检测荧光标记蛋白 Atg8 的定位和 Western Blot 检测 Atg8 蛋白表达量的结果表明，奥替溴铵诱导细胞毒性自噬。罗丹明 6G 外排实验与激光共聚焦实验表明奥替溴铵激活细胞外排。

实验结论：我们的研究表明奥替溴铵具有广谱和有效的抗真菌活性，可以抑制胞内的麦角甾醇正常定位到细胞膜上。进一步的研究表明，奥替溴铵通过靶向 Sec31 阻碍囊泡介导的运输，从而抑制麦角甾醇转运蛋白 Sip3 的质膜定位。结果表明，奥替溴铵影响了麦角甾醇的质膜定位并诱导细胞毒性自噬。总之，奥替溴铵作为 FDA 批准的化合物，具有细胞毒性低、药代动力学资料完整等优点<sup>[1]</sup>，且其对白念珠菌具有独特的诱导白念珠菌毒性自噬的作用，具有成为新型治疗侵袭性真菌药物的潜力。

关键词：麦角甾醇质膜定位；自噬；白念珠菌；奥替溴铵

## 青蒿琥酯激活腺泡细胞酶噬治疗急性胰腺炎的机制研究

朱婷<sup>1</sup>，王攀<sup>1</sup>，岑彦艳<sup>1,\*</sup>，潘夕春<sup>1,\*</sup>

1. 陆军军医大学药学与检验医学系药理学教研室，重庆，400038

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 是一种急性发作的炎性疾病，部分患者可发展为重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP)，病死率高达 50%，迄今尚无能有效阻断 AP 进展为 SAP 的药物。前期发现青蒿琥酯 (artesunate, AS) 对 SAP 大鼠和 AP 小鼠均具有保护作用，本研究拟基于胰腺腺泡细胞中靶向胰酶原的选择性自噬即酶噬 (zymophagy) 研究 AS 对 AP 小鼠的保护作用及机制。首先，采用雨蛙素联合脂多糖诱导体内外胰腺炎模型以评价 AS 对 AP 小鼠的保护作用；其次，采用透射电镜、荧光共定位、免疫印迹等方法观察酶噬，并采用自噬抑制剂和 RNA 干扰明确酶噬在 AS 抗 AP 活性中的关键作用；然后，采用酶原活化指标联合自噬检测，明确自噬受体 p62 在 AS 抗 AP 活性中的关键作用；最后，基于核转录因子红系 2 相关因子 2 (nuclear factor—erythroid 2—related factor 2, NRF2) —p62—kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (kelch—like ECH associated protein 1, Keap1) 通路，探究 AS 上调 p62 表达的分子机制。结果表明，AS 对 AP 小鼠具有良好的保护作用，可以减轻胰腺出血和炎性浸润、降低 AP 相关酶活性，在体外也能显著抑制 AP 诱导的腺泡细胞淀粉酶活性和酶原活化。AS 显著诱导 AP 胰腺酶噬激活，该作用在 AS 抗 AP 活性中发挥关键作用。详细来说，AS 上调 AP 腺泡细胞中 p62 表达，通过 VMP1—泛素—p62 途径激活酶噬，从而减少 AP 诱导的酶原活化。分子机制研究表明，AS 上调 p62—酶噬通路作用与 NRF2 有关，其抑制细胞质中 Keap1—NRF2 结合，促进 NRF2 核转位从而特异性上调 p62 表达，由 p62 劫持 Keap1 以进一步促进 NRF2 入核。综上，AS 激活 NRF2—p62 正反馈环路从而上调 p62 依赖的腺泡细胞酶噬，对体内外 AP 模型均表现出良好的保护作用，有望成为治疗 AP 的候选药物。

关键词：急性胰腺炎；青蒿琥酯；自噬

## 北京新航兴业科贸有限公司

YP100 型压力换能器（免定标），经过多年的研究、改进，为了更好地适应生理、药理、机能实验教学的需要，对换能器做出了三大突破性的改进。

一、免定标：换能器在生产过程中做到了输出一致性，每支换能器的灵敏度都小于 1% 的误差，在教学过程中可直接把换能器的输出 mv 输入到采集系统中，不需定标，另外每支换能器之间可以互换。

二、过载大：换能器的测量范围-50~300mmHg，精度小于 0.5%，为了保证使用安全，换能器在设计中加了防过载装置，使换能器的过载可达 2000mmHg 以上，这样就防止了学生加液体时操作失误造成的换能器损坏。

三、免清洗：换能器在实验使用中有回血现象，使用完后必须对换能器进行清洗，如果清洗不当，会造成换能器的损坏，为了避免这种情况的发生，我们设计了隔离罩，让换能器与液体隔开，使用后只清洗换能器的罩子，无需清洗换能器。改进后的换能器，它的使用寿命大大增加，该换能器适用于成仪、泰盟、美易，澳大利亚，BIOPAC 的采集系统。

YP200 型压力换能器，（免定标）

JZ100 型张力换能器（离体血管环用）、液体表面张力测量等。

量程：0-1g、0-2g、0-3g、0-5g、0-10g，输出：20~30mv/6v/g 分辨率：1 毫克。

JZ100 型张力换能器（免定标）是公司最近研制的它可以调零、调增益，它可以与成仪、泰盟的采集系统配套，（成仪 30g/100mv、泰盟 50g/50mv），为了使用安全，换能器的应变梁上下加了保护装置。

XH200 型大鼠无创血压测量仪

该仪器自动加压，可同时测量 1-6 只大鼠的尾压，可与成仪、泰盟、美易的采集系统配套使用。

XH1000 型等长张力换能器 测量范围：0-10g 0-30g 0-50g 0-100g 0-300g 0-500g

XH200 型等长收缩换能器 测量范围：0-3g 0-5g 0-10g 0-20g 0-30g 0-50g

DZ100 型等张力换能器（长度变化） 测量范围：±20 mm

XH1000 型痛觉换能器（用于足底刺痛） 测量范围：0-30g 0-50g 0-100g 0-200g 0-300g 0-500g 0-1000g

HX100 型呼吸换能器（人体胸带式）

HX101 型呼吸换能器（动物捆绑式）

HX200 型呼吸流量换能器（插管式）

HX300 型呼吸换能器（单咀式 连接 Y 字插管式或动物鼻孔）

HX400 型呼吸功能换能器（人体呼吸波、肺活量等测量用）

HX500 型插管式呼吸波换能器（用于兔子、大鼠、小鼠插气管或插鼻孔）

XH100 型小鼠呼吸实验盒（用于咳嗽药物实验）

WS100 型胃肠运动换能器（用于测量胃肠蠕动）

YL200 型拉力换能器（用于测量动物某个部位的折断力 最大拉力为 2000g）

CW100 型温度换能器（用于测量动物的肛温 探头为 Ø2×10mm）

大鼠尾压阻断套，12 毫米，16 毫米。

CW300 型肛温换能器（用于测量动物的肛温，探头为 Ø3×50mm）

CW400 型片式体温换能器（用于测量动物表面体温）

XJ100 型心音换能器（用于人和动物的心音测量）

XJ200 型两用听诊器（用于教学实验 听声音与记录同步）

MP100 型脉搏换能器（用于测量人的指脉）

MP200 型鼠尾脉搏换能器（用于测量大鼠或小鼠的尾脉）

MP300 型腕部脉搏换能器（用于测量人的手腕部位的脉搏）

人体血压测量教学套件（用于无创血压测量 由血压表、压力换能器、电子听诊器组成）

其它附件：一维不锈钢微调器、二维微调器、三维微调器、神经屏蔽盒、进口三通、铂金电极、记滴换能器、电极万向夹

以上产品都能与成都仪器厂、南京美易、成都泰盟、澳大利亚 BIOPAC 等国内外采集系统配套使用。

公司名称：北京新航兴业科贸有限公司

地址：北京市朝阳区北路 199 号摩码大厦 1018 室

电话：(010) 85985769 (010) 85987769（传真）

邮编：100026

网址：www.xinhangxingye.com

邮箱：http://mail.yan85985769@sina.com 13701369580@163.com



**成都仪器厂**  
Chengdu Instrument Factory

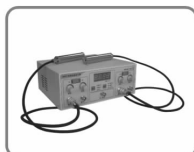
中国仪器仪表行业协会理事  
中国仪表行业分析仪器理事

成都仪器厂于1997年由国有企业改制为股份合作制企业，担任中国仪器仪表行业协会常务理事、分析仪器分会理事；中国仪器仪表学会理事、管理科学分会理事；四川省自动化与仪器仪表学会理事等；已通过 ISO9001质量管理体系认证；自1990年起连续被评为四川省级“守合同、重信用”企业。成都仪器厂现有员工130余人（含工程技术人员50余人）从事仪器仪表的硬件制造及控制软件开发/销售/技术服务，用于仪器制造的房屋面积5100余平方米。

制造/销售：多道生理信号采集处理系统及生命科学实验仪器；示波极谱仪；旋转粘度计；微量水分仪，露点仪；氦质谱（真空）检漏仪，真空计；恒温水浴；记录仪；气相色谱仪等系列仪器。



RM-6240系列、RM-6280C  
多道生理信号采集处理系统



SWF-1D  
高阻微电极放大器



WD-2型  
微电极控制仪



DHX-50/300系列  
静音型动物呼吸机



JTC-1型  
惊厥及痛觉实验交流刺激器



YC-2型  
程控电刺激器



SQG-4  
四腔器官浴槽系统



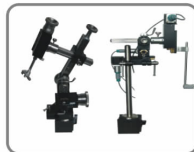
HSS-1B型  
离体肠管及镇痛实验恒温装置



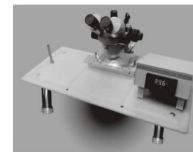
LGF-2B型 心脏全功能灌注装置  
LGF-1B型 心脏Langendorff灌注装置



大鼠尾动脉  
血压测定装置



STW-3型三维推进器  
STW-4型 微操作器



C2008型  
微循环及细胞通用分析系统



MGS-1型大(小)鼠自发  
活动(旷场)图像分析系统



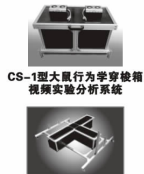
MTS-1型大(小)鼠  
跳台视频分析系统



MS-1型  
水浴宫视频跟踪系统



MSZ-1型  
高架十字迷宫图像分析系统



CS-1型大鼠行为学习穿梭箱  
视频实验分析系统

成仪厂址：成都市青羊工业园敬业路218号K27栋（腾飞大道218号）  
销售电话：(028) 86956036 86935160  
成仪网址：http://www.scchengyi.com

邮 编：610091  
传 真：028-86935160 86933356  
Email: scchengyi@scchengyi.com  
技术咨询：028-86931653



## 请注意及时浏览《中国药理学会》主页

《中国药理学会》主页 [www.cnphars.org.cn](http://www.cnphars.org.cn) 是中国药理学会的网站，它及时反映学会的活动和信息，内容涉及广泛，除了介绍学会组织机构外，尚有新闻发布、出版刊物（包括中国药理学会主办的公开发行刊物的链接）、学术活动、会员园地、药学人物、药理学大会等栏目，并有其它友情链接十余个。特别是新闻发布栏目，它及时反映学会的最新消息和重要通知等，希望各位会员给予密切关注。

该网站与《中国药理通讯》互补成为中国药理学会与全体会员交流和联系的重要渠道。希望广大会员能充分利用该主页，并为之提供信息和建议。

中国药理学会  
《中国药理通讯》编辑部

---

中国药理通讯

准印证号码：京内资准字 0814—L 0141 号

第四十一卷 增刊

《中国药理通讯》编辑部

(北京·学院路·北京大学医学部·药理学系)

中国药理学会

北京市庆全新光印刷有限公司

编辑

出版

印刷

---

本期出版日期 2024年6月2日