

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.03.005

雷公藤内酯醇通过调控 miR-142-3p/HSP70 通路抑制人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、侵袭和迁移

王进军^{1,2a}, 崔鹏来³, 程欣¹, 钱梦悦^{2b}, 曾祥隽³, 徐子金³, 王怡帆³ [1. 武汉市中医医院 风湿科, 湖北 武汉 430000; 2. 湖北中医药大学 a. 研究生院; b. 针灸骨伤学院, 湖北 武汉 430065; 3. 武汉经济技术开发区(汉南区)人民医院 康复理疗科, 湖北 武汉 430090]

[摘要] **目的:** 探究雷公藤内酯醇(TP)通过 miR-142-3p/HSP70 信号通路对人乳腺癌 MCF-7 细胞恶性生物学行为的影响。**方法:** 常规培养 MCF-7 细胞, 将其分为 6 组: 对照组、TP 组、miR-142-3p inhibitor 组、TP+inhibitor 组、miR-142-3p mimic 组和 TP+mimic 组, 用转染试剂将相应的核酸或质粒转染 MCF-7 细胞。qPCR 法、EdU 细胞增殖实验、Transwell 小室实验、细胞划痕实验、WB 法分别检测转染后各组 MCF-7 细胞中 miR-142-3p 和 HSP70 mRNA 的表达, MCF-7 细胞的增殖、侵袭、迁移能力和 HSP70 蛋白表达水平。**结果:** TP 或 miR-142-3p 过表达能显著促进 MCF-7 细胞中 miR-142-3p 和 HSP70 的表达, 敲减 miR-142-3p 则可明显抑制 MCF-7 细胞中 miR-142-3p 和 HSP70 的表达, TP 可逆转由敲减 miR-142-3p 对 MCF-7 细胞中 miR-142-3p 和 HSP70 表达的影响; TP、过表达 miR-142-3p 均可明显抑制 MCF-7 细胞的增殖、迁移和侵袭能力(均 $P < 0.05$), 敲减 miR-142-3p 则均可促进 MCF-7 细胞的增殖、迁移和侵袭能力(均 $P < 0.05$), TP 可逆转由敲减 miR-142-3p 对 MCF-7 细胞恶性生物学行为的影响(均 $P < 0.05$)。**结论:** TP 可通过调控 miR-142-3p/HSP70 信号通路, 进而抑制 MCF-7 细胞的增殖、侵袭和迁移能力。

[关键词] 乳腺癌; 雷公藤内酯醇; MCF-7 细胞; 增殖; 侵袭; 迁移; miR-142-3p/HSP70 信号通路

[中图分类号] R737.9; R730.52 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)03-0240-07

Triptolide inhibits proliferation, invasion and migration of human breast cancer MCF-7 cells by regulating miR-142-3p/HSP70 pathway

WANG Jinjun^{1,2a}, CUI Penglai³, CHENG Xin¹, QIAN Mengyue^{2b}, ZENG Xiangjun³, XU Zijin³, WANG Yifan³ (1. Department of Rheumatology, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430000, Hubei, China; 2a. Graduate School; b. College of Acupuncture, Orthopedics, and Trauma, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei, China; 3. Rehabilitation and Physiotherapy Department, People's Hospital of Wuhan Economic-Technological Development Zone [Hannan District], Wuhan 430090, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of triptolide (TP) on the malignant biological behaviors of human breast cancer MCF-7 cells through the miR-142-3p/HSP70 signaling pathway. **Methods:** MCF-7 cells were routinely cultured and divided into 6 groups: control group, TP group, miR-142-3p inhibitor group, TP+inhibitor group, miR-142-3p mimics group and TP+mimics group. The corresponding nucleic acids or plasmids were transfected into MCF-7 cells with transfection reagents. The mRNA expression of miR-142-3p and HSP70 in MCF-7 cells was detected by qPCR method. The proliferation, invasion and migration abilities of MCF-7 cells were detected by EdU cell proliferation assay, Transwell chamber assay, and cell scratch assay, respectively. The protein expression of HSP70 in MCF-7 cells was determined by WB assay. **Results:** TP or miR-142-3p overexpression significantly promoted the expression of miR-142-3p and HSP70 in MCF-7 cells, while knockdown of miR-142-3p significantly inhibited the expression of miR-142-3p and HSP70 in MCF-7 cells. TP could reverse the effects of miR-142-3p knockdown on the expression of miR-142-3p and HSP70 in MCF-7 cells. TP and miR-142-3p overexpression could significantly inhibit the proliferation, migration and invasion of MCF-7 cells (all $P < 0.05$), while knockdown of miR-142-3p could promote the proliferation, migration and invasion of MCF-7 cells (all $P < 0.05$). TP could reverse the effect of miR-142-3p knockdown on the malignant biological behavior of MCF-7 cells (all $P < 0.05$). **Conclusions:** TP can inhibit the proliferation, invasion, and migration of MCF-7 cells by regulating the miR-142-3p/HSP70 signaling pathway.

[Key words] breast cancer; triptolide; MCF-7 cell; proliferation; invasion; migration; miR-142-3p/HSP70 signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(3): 240-246. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.03.005]

[基金项目] 武汉市卫健委科研基金(No.WX20Z16)

[作者简介] 王进军(1975—), 女, 硕士, 副主任医师, 主要从事风湿病中西医结合治疗的研究。E-mail: acuwjj@163.com

[通信作者] 崔鹏来, E-mail: 495147863@qq.com

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤,中国乳腺癌的发病率和病死率均居女性恶性肿瘤之首^[1]。放化疗通常用于提高晚期乳腺癌患者生存率,较为常用的乳腺癌新辅助化疗方案包含蒽环类药物与紫杉醇类联合或顺序给药,但耐药性和不良反应仍然是阻碍治疗效果的主要问题^[2]。中药因其活性成分多,易于获取、疗效好且无明显不良反应而被广泛应用于疾病治疗,在乳腺癌防治中也发挥着至关重要的作用。雷公藤内酯醇(triptolide, TP)是一种二萜类三氧化二酯,是传统中药雷公藤中的主要成分之一,具有多种药理活性^[3-4]。据报道^[5-6],TP能诱导DNA断裂,增强细胞凋亡,干扰肿瘤细胞增殖,抑制细胞迁移、侵袭和转移,防止血管生成,并与抗肿瘤药物联合产生协同作用,在多种肿瘤中均有明显疗效。一些miRNA在乳腺癌中异常表达,调控肿瘤发生中的各种靶基因和关键信号通路,表现出作为生物标志物和肿瘤治疗靶点的潜力,并与药物治疗密切相关^[7]。研究^[8]表明,miRNA也是TP介导肿瘤细胞活性的关键调控元件。JUSOH等^[9]研究指出,miR-142-3p在乳腺癌患者中表达失调,可作为乳腺癌的潜在生物标志物。MACKENZIE等^[10]发现,TP能抑制热休克蛋白(heat shock protein 70, HSP70)的表达,且miR-142-3p可独立于热休克因子1直接靶向调控HSP70,影响胰腺导管腺癌细胞增殖和扩散^[11]。然而,在乳腺癌中,TP对miR-142-3p/HSP70通路的调控作用及对癌细胞迁移和侵袭的影响仍不清楚。因此,本研究基于乳腺癌MCF-7细胞,从miR-142-3p/HSP70信号通路的角度,进一步探讨TP治疗乳腺癌的可能机制。

1 材料与方法

1.1 细胞及主要试剂

人乳腺癌MCF-7细胞购自中国科学院上海细胞库。胎牛血清(货号:FBS500-S)购自AusGeneX公司, MEM培养基(货号:TBD11095)、PBS(货号:PB2004Y)购自TBD公司, TP(货号:T107399)购自Aladdin公司(配制方法:用100%二甲基亚砜稀释成1.0 mg/L的储存液,然后用MEM培养基稀释成所需浓度), Opti-MEM(货号:M293TI)购自义翘神州公司, Lipofectamine® RNAiMAX(货号:13778030)购自Invitrogen公司, EdU细胞增殖检测试剂盒(货号:C10310-1)购自锐博公司, Matrigel基质胶(货号:SJ-JC15426)购自Jichun公司, Transwell小室(货号:3413)购自Corning公司, TRIzol(货号:15596026)购自Ambion公司, SYBR FAST qPCR Master Mix(货号:KM4101)购自KAPA Biosystems公司, 反转录试

剂盒(货号:RR047A)购自TAKARA公司, 裂解液和BCA蛋白浓度测定试剂盒(货号:R0010和PC0020)购自Solarbio公司, PVDF转移膜和化学发光试剂(货号:IPVH00010和WBKLS0500)购自Millipore公司, 兔抗HSP70抗体(货号:PAB31286)和兔抗GAPDH(货号:PAB36269)和辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔IgG(货号:SAB43714)均购自Bioswamp公司。

1.2 细胞培养、转染与分组

将冻存的MCF-7细胞从液氮罐中取出, 于37℃水浴中解冻, 使其迅速融化。将完全融化后的细胞悬液转移至离心管中, 加4 mL完全培养基, 400×g离心3 min, 弃上清液, 加入1 mL培养液重悬细胞后转移至培养瓶中。加入4 mL含10%胎牛血清的MEM培养基, 将细胞置于37℃、5% CO₂的培养箱内培养。转染前24 h, 将细胞接种于6孔板中, 每孔约5×10⁵个, 待细胞汇合度达到90%时进行转染。取100 pmol/L miRNA稀释于250 μL Opti-MEM液中; 取5 μL Lipofectamine® RNAiMAX加入250 μL Opti-MEM液中, 室温下静置5 min。将两种稀释液混合, 室温下处理20 min。将混合液加入到细胞悬液中, 轻柔摇晃细胞培养板, 培养箱中培养48 h。将MCF-7细胞分为6组: 对照组、TP组、miR-142-3p inhibitor组、TP+inhibitor组、miR-142-3p mimic组和TP+mimic组。根据课题组前期研究结果^[12], TP组用50 nmol/L TP处理48 h; TP+inhibitor/mimic组同时加入50 nmol/L TP、miR-142-3p inhibitor、miR-142-3p mimic处理48 h。

1.3 EdU法检测各转染组MCF-7细胞的增殖能力

将转染各组MCF-7细胞(6×10³个/孔)接种于96孔板中, 每孔加入100 μL 50 μmol/L EdU溶液(用MEM培养基1:1 000稀释)处理2 h。PBS洗3次, 每次5 min。4%多聚甲醛室温处理30 min, PBS洗3次, 每次5 min。加入100 μL 0.5% TritonX-100 PBS脱色摇床摇动10 min。PBS洗5 min。每孔加入100 μL Apollo染色反应液, 避光处理30 min。除去染色反应液后, 加100 μL 0.5% TritonX-100 PBS脱色摇床洗2~3次, 每次10 min。Hoechst 33258避光染色30 min, 荧光显微镜下观察、拍照, 并分析其累计光密度。

1.4 Transwell小室实验检测各转染组细胞的侵袭能力

接种前将24孔板和Transwell小室在PBS中浸泡5 min, 在Transwell小室中铺80 μL Matrigel基质胶, 放置30 min。采用无血清培养液洗涤细胞, 调整细胞密度为1×10⁵个/mL接种到Transwell小室内, 每个小室0.5 mL细胞悬液; 在Transwell小室下层加入0.75 mL含10%胎牛血清的培养液, 37℃、5% CO₂培养箱中培养48 h。取出培养板, 弃去培养液, 加入1 mL PBS清洗1次, 每孔加入1 mL 4%甲醛固定液室温固定

20 min。吸去固定液, PBS清洗1次, 每孔加入1 mL 0.5%结晶紫溶液染色30 min后PBS清洗3次, 晾干。用棉签擦去Transwell小室内未侵袭的细胞, 显微镜下观察, 计数每个视野中的细胞数。

1.5 细胞划痕实验各转染组细胞的迁移能力

用笔在6孔板背后竖直均匀画出5条直线, 横穿过孔。收集各组细胞, 每孔中加入 1×10^6 个细胞, 培养过夜待细胞铺满孔板。用移液器吸头垂直于孔板背后的直线划痕, 然后PBS冲洗脱落细胞, 加入无血清培养液继续培养, 在0 h和48 h时进行拍照, 观察细胞迁移情况。

1.6 qPCR法检测各转染组细胞中miR-142-3p、HSP70的表达

收集转染各组细胞, 加1 mL TRIzol试剂提取总RNA, 反转录合成cDNA, 以cDNA为模板进行PCR扩增。扩增体系为: 10 μ L SYBR FAST qPCR Master Mix, 0.5 μ L上游引物, 0.5 μ L下游引物, 1 μ L cDNA模板, 8 μ L ddH₂O。PCR反应参数: 95 $^{\circ}$ C 3 min, 95 $^{\circ}$ C 5 s、56 $^{\circ}$ C 10 s、72 $^{\circ}$ C 25 s, 共40个循环。其中GAPDH和U6作为内参进行样品间的校正, 使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量。引物序列见表1。

表1 qPCR引物序列

基因名称	序列(5'-3')
miR-142-3p-F	GGGTGTAGTGTTCCTACTT
miR-142-3p-R	AACTGGTGTCGTGGAGTCGGC
HSP70-F	GTCCTTGTGGAGGGTCTT
HSP70-R	AATATCTCTGGCTGAACACTCT
U6-F	CTCGCTTCGGCAGCACA
U6-R	AACGCTTCACGAATTTGCGT
GAPDH-F	GGGAACTGTGGCGTGAT
GAPDH-R	GAGTGGGTGTCGCTGTTGA

1.7 WB法检测各转染组细胞中HSP70的表达

收集各组细胞约 1×10^6 个, 加200 μ L裂解液, 4 $^{\circ}$ C下裂解细胞, 12 000 $\times g$ 离心10 min, 取上清液, BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。以每孔20 μ g蛋白上样量进行SDS-PAGE, 将蛋白转移至PVDF膜上。5%脱脂奶粉4 $^{\circ}$ C下封闭过夜, 分别加入兔抗HSP70(稀释比1:1 000)和兔抗GAPDH(稀释比1:1 000), 室温下处理1 h。洗膜后, 加入HRP标记的羊抗兔IgG, 室温下处理1 h。洗膜后加入化学发光试剂, 曝光显影后, 读取蛋白条带灰度值。

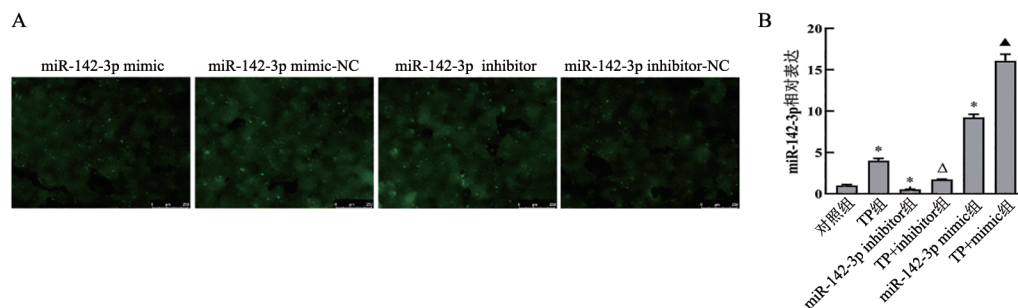
1.8 统计学处理

以上所有实验均独立重复3次。采用统计学软件SPSS 19.0对所得实验数据进行统计分析。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TP能显著促进MCF-7细胞中miR-142-3p的表达

MCF-7细胞分别转染miR-142-3p mimic、inhibitor及其空载质粒48 h后, 用荧光显微镜发现, 几乎所有MFC-7细胞均呈现绿色荧光(图1A), 说明质粒均成功转染。qPCR法检测结果(图1B)显示, 与对照组相比, miR-142-3p inhibitor组miR-142-3p表达显著下降($P < 0.05$), 而miR-142-3p mimic组miR-142-3p表达显著增加($P < 0.05$), 实验结果表明, miR-142-3p过表达与敲减质粒均成功转染。同时, TP组MCF-7细胞中miR-142-3p mRNA表达量显著升高(图1B, $P < 0.05$), 实验结果表明, TP可明显促进MCF-7细胞中miR-142-3p mRNA的表达。



A: 荧光显微镜观察转染效率($\times 100$); B: qPCR法检测转染后各组MCF-7细胞中miR-142-3p的表达。与对照组比较, * $P < 0.05$; 与miR-142-3p inhibitor组比较, ^Δ $P < 0.05$; 与miR-142-3p mimic组相比, ^Δ $P < 0.05$ 。

图1 过表达和敲减miR-142-3p转染效率鉴定及转染后各组MCF-7细胞中miR-142-3p表达

2.2 TP、过表达miR-142-3p可明显抑制MCF-7细胞的增殖能力

EdU法检测结果(图2)显示, 与对照组相比, TP

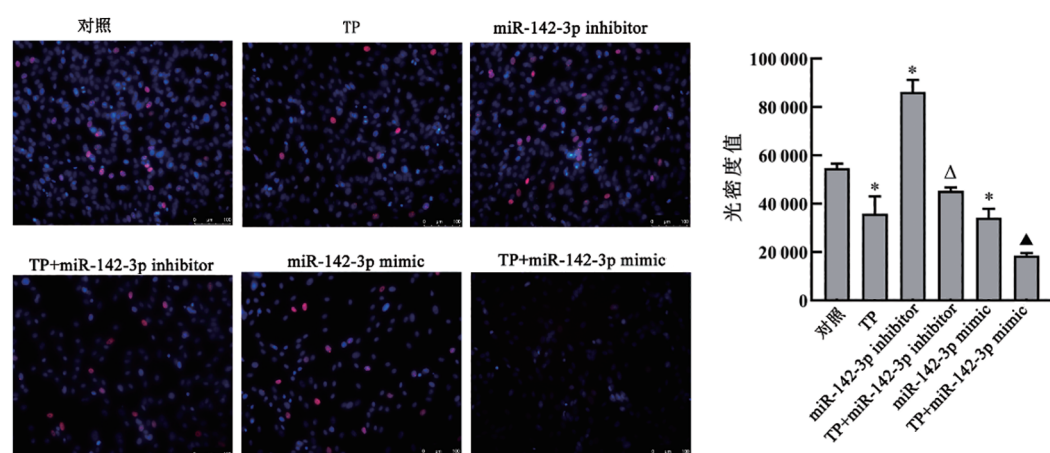
和过表达miR-142-3p处理可抑制MCF-7细胞增殖($P < 0.05$), 且TP和过表达miR-142-3p双重处理对MCF-7细胞增殖的抑制作用更为明显($P < 0.05$)。与

之相反,下调 miR-142-3p 的表达可促进 MCF-7 细胞增殖 ($P<0.05$),而 TP 可逆转下调 miR-142-3p 对 MCF-7 细胞增殖的促进作用 ($P<0.05$)。

2.3 TP、过表达 miR-142-3p 可明显抑制 MCF-7 细胞的侵袭能力

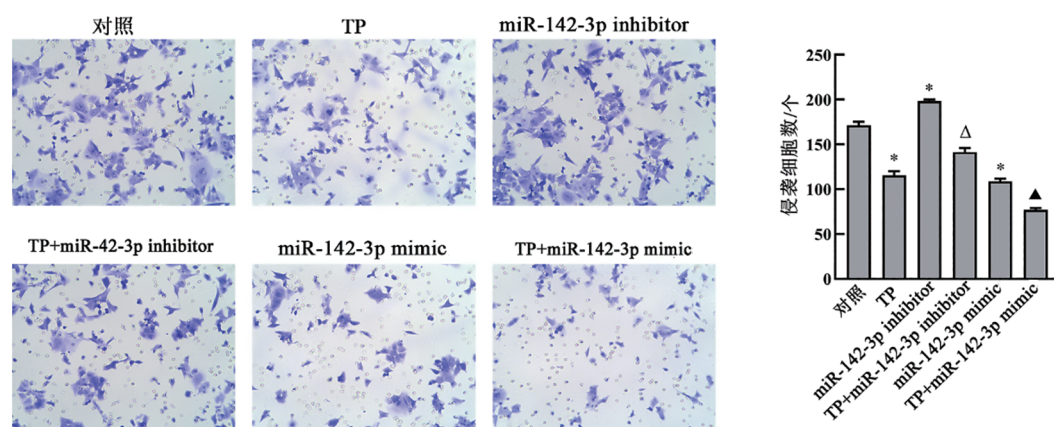
Transwell 小室实验检测结果 (图 3) 显示,与对照组相比,TP 组和 miR-142-3p mimic 组侵袭细胞数显著减少 (均 $P<0.05$),表明 TP 和过表达 miR-142-3p 处理可抑制 MCF-7 细胞侵袭。与 miR-142-3p

mimic 组相比,TP+mimic 组侵袭细胞数显著减少 ($P<0.05$),表明 TP 和过表达 miR-142-3p 双重处理对 MCF-7 细胞侵袭的抑制作用更显著。与对照组相比,miR-142-3p inhibitor 组侵袭细胞数显著增多 ($P<0.05$),表明下调 miR-142-3p 的表达可促进 MCF-7 细胞侵袭。与 miR-142-3p inhibitor 组相比,TP+miR-142-3p inhibitor 组 MCF-7 细胞数显著减少 ($P<0.05$),表明 TP 可逆转下调 miR-142-3p 对 MCF-7 细胞侵袭的促进作用。



与对照组比较,* $P<0.05$;与 miR-142-3p inhibitor 组比较,^Δ $P<0.05$;与 miR-142-3p mimic 组相比,[▲] $P<0.05$ 。

图2 EdU法检测各组 MCF-7 细胞的增殖能力($\times 200$)



与对照组相比,* $P<0.05$;与 miR-142-3p inhibitor 组相比,^Δ $P<0.05$;与 miR-142-3p mimic 组相比,[▲] $P<0.05$ 。

图3 Transwell 小室法检测各组 MCF-7 细胞的侵袭能力($\times 100$)

2.4 TP、过表达 miR-142-3p 可明显抑制 MCF-7 细胞的迁移能力

细胞划痕实验检测结果 (图 4) 显示,与对照组相比,TP 和过表达 miR-142-3p 处理后 MCF-7 细胞划痕间距较大,迁移细胞数减少 ($P<0.05$),且 TP 和过表达 miR-142-3p 双重处理后的细胞划痕间距最大。下调 miR-142-3p 的表达后 MCF-7 细胞划痕间距变小,迁移细胞数增多 ($P<0.05$)。与 miR-142-3p inhibitor 组相比,TP+miR-142-3p inhibitor 组 MCF-7 细胞划痕间

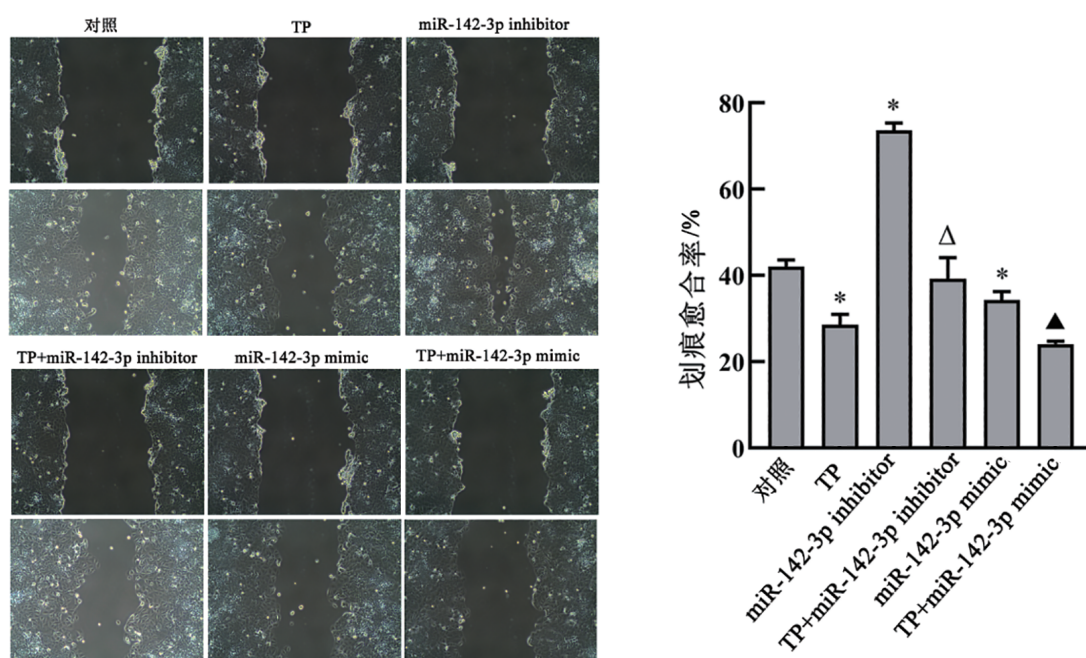
距变大,迁移细胞数减少 ($P<0.05$),表明 TP 可逆转下调 miR-142-3p 对 MCF-7 细胞迁移的促进作用。

2.5 TP、过表达 miR-142-3p 可明显抑制 MCF-7 细胞中 HSP70 表达

用 qPCR、WB 法检测结果 (图 5) 显示,与对照组相比,TP 和过表达 miR-142-3p 处理显著抑制 HSP70 mRNA 和蛋白表达量 (均 $P<0.05$);且 TP+miR-142-3p mimic 组 HSP70 mRNA 和蛋白表达量显著低于 TP 组 ($P<0.05$);与对照组比较,miR-142-3p inhibitor 组

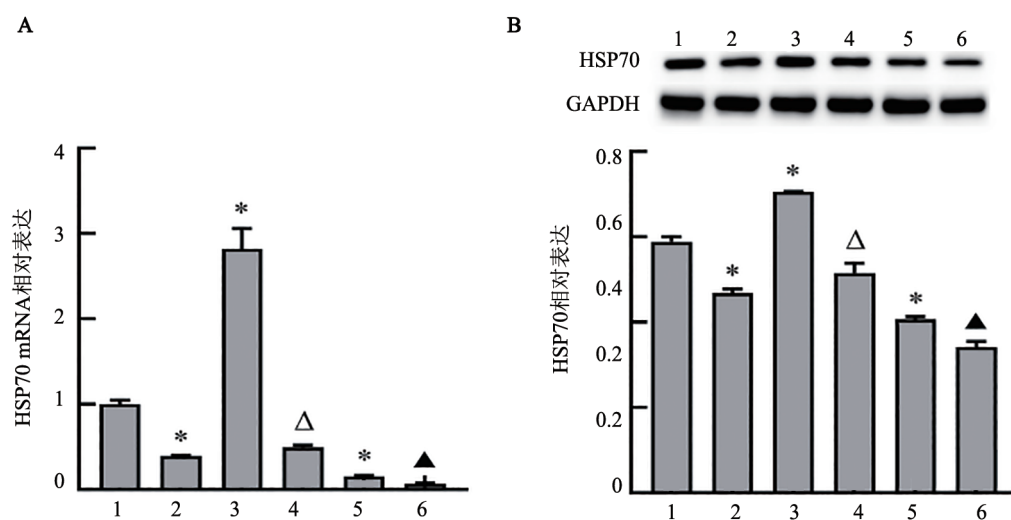
MCF-7细胞中HSP70 mRNA和蛋白表达水平明显升高($P<0.05$);与miR-142-3p inhibitor组相比,TP+miR-142-3p inhibitor组MCF-7细胞中HSP70 mRNA和蛋白表达量均显著下降(均 $P<0.05$)。实验结果表

明,TP、过表达miR-142-3p可明显抑制HSP70的表达,敲减miR-142-3p可促进HSP70的表达,TP可逆转敲减miR-142-3p对MCF-7细胞中HSP70表达的影响。



与对照组相比,* $P<0.05$;与miR-142-3p inhibitor组相比, $\Delta P<0.05$;与miR-142-3p mimic组相比, $\blacktriangle P<0.05$ 。

图4 细胞划痕实验检测转染各组MCF-7细胞的迁移能力($\times 100$)



1:对照组,2:TP组,3:miR-142-3p inhibitor组,4:TP+miR-142-3p inhibitor组,5:miR-142-3p mimics组,6:TP+mimic组。

对照组相比,* $P<0.05$;与miR-142-3p inhibitor组相比, $\Delta P<0.05$;与miR-142-3p mimics组相比, $\blacktriangle P<0.05$ 。

图5 qPCR法(A)和WB法(B)检测转染各组MCF-7细胞中HSP70 mRNA和蛋白的表达

3 讨论

乳腺癌的复发和转移是患者死亡的主要原因,因此,防治乳腺癌转移具有重要的临床意义。研究^[13-14]证实,TP对包括乳腺癌和神经母细胞瘤在内的癌症均具有抗肿瘤作用,主要通过抑制肿瘤细胞增

殖和诱导细胞凋亡来实现。miRNA调控肿瘤细胞侵袭和转移,参与肿瘤的发生发展的机制已成为研究热点^[15-16]。MA等^[17]发现,miR-142-3p在三阴性乳腺癌细胞中呈显著低表达,过表达miR-142-3p可抑制MDA-MB-468和MDA-MB-231细胞增殖和迁移,促进细胞凋亡,发挥有效的抑瘤作用。LIANG等^[18]研

究发现,过表达 miR-142-3p 可能通过靶向高转移率族盒 1 蛋白抑制乳腺癌细胞自噬并增强对多柔比星的药物敏感性。本研究发现 TP 和过表达 miR-142-3p 处理均可显著抑制 MCF-7 细胞增殖,且 TP 和过表达 miR-142-3p 共同作用比单一处理对 MCF-7 细胞增殖的抑制作用更明显。与之相反,敲减 miR-142-3p 的表达显著促进 MCF-7 细胞增殖,而 TP 可逆转敲减 miR-142-3p 对 MCF-7 细胞增殖的促进作用。

乳腺癌细胞从原发肿瘤转移并扩散到远端处是乳腺癌患者死亡的主要原因,抑制癌细胞的转移应该作为其治疗的主要目标^[19-20]。目前,乳腺癌主要通过手术切除原发肿瘤并辅以放疗或化疗进行干预治疗,然而这些方法主要影响细胞增殖、细胞周期和细胞凋亡,不能阻止肿瘤细胞的转移。HONG 等^[21]研究结果显示,TP 通过抑制 TPA 诱导的细胞外信号调节激酶的磷酸化,降低基质金属蛋白酶-9 的表达,进而抑制 MCF-7 细胞侵袭。本研究结果显示,TP 和过表达 miR-142-3p 处理均可显著抑制细胞侵袭和迁移。同样的,TP 可逆转敲减 miR-142-3p 对 MCF-7 细胞侵袭和迁移的促进作用。这说明,TP 可能通过上调 miR-142-3p 的表达来抑制乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、侵袭和迁移。

HSP 是普遍存在且高度保守的蛋白质,HSP70 是其中的一员,已被公认为抗癌治疗的靶点^[22]。ALBAKOVA 等^[23]综述了 HSP70 在癌症进展中的不同作用,其具有抑制多种凋亡途径、调节细胞坏死和衰老、干扰免疫反应、促进血管生成和侵袭及转移的能力。JAGADISH 等^[24]检测了肿瘤组织和乳腺癌细胞(MCF7、BT-474、SK-BR-3 和 MDA-MB-231)中 HSP70 的表达,结果发现,大多数乳腺癌患者肿瘤组织和细胞中 HSP70 呈高表达。ROTHAMMER 等^[11]调查了乳腺癌患者在放疗前、中、后三个阶段和随访 1 年以上患者血清中 HSP70 水平,发现 HSP70 水平升高可能提示存在慢性炎症反应,与肿瘤复发相关。YU 等^[22]发现,HSP70 与乳腺癌的细胞增殖、不良预后和耐药性有关。靶向靶基因的 3'-UTR 是 miRNA 参与细胞生物学调控的重要手段之一^[25]。研究^[19]表明,miR-142-3p 可直接靶向调控 HSP70 的表达。本研究结果显示,TP 可显著上调 miR-142-3p 的表达,抑制 HSP70 mRNA 和蛋白表达量。此外,本研究结果也显示,过表达 miR-142-3p 也显著抑制 HSP70 mRNA 和蛋白表达量。表明 TP 可能是通过调控 miR-142-3p/HSP70 信号通路对乳腺癌细胞 MCF-7 增殖、侵袭和迁移产生影响。

综上所述,TP 可能通过调控 miR-142-3p/HSP70 信号通路,抑制乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、侵袭和迁

移。本研究从 miR-142-3p/HSP70 信号通路的角度初步探讨了 TP 对乳腺癌细胞的作用,后续可探讨 TP 对 miR-142-3p/HSP70 信号通路下游因子的影响,更进一步完善 TP 治疗乳腺癌的分子机制,以期为 TP 的临床应用提供理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] WANG X R, WANG C, GUAN J H, *et al.* Progress of Breast Cancer basic research in China[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(8): 2069-2079. DOI: 10.7150/ijbs.60631.
- [2] TÖKÉS A M, VÁRI-KAKAS S, KULKA J, *et al.* Tumor glucose and fatty acid metabolism in the context of anthracycline and taxane-based (neo)adjuvant chemotherapy in breast carcinomas[J/OL]. *Front Oncol*, 2022, 12: 850401[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35433453/>. DOI: 10.3389/fonc.2022.850401.
- [3] 石金凤, 罗尧尧, 李佳鑫, 等. 雷公藤甲素单用及联合用药抗肿瘤的作用及机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(16): 3391-3398. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20190610.402.
- [4] JIANG X, CAO G, GAO G Y, *et al.* Triptolide decreases tumor-associated macrophages infiltration and M2 polarization to remodel colon cancer immune microenvironment via inhibiting tumor-derived CXCL12[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(1): 193-204. DOI: 10.1002/jcp.29833.
- [5] RENO T A, KIM J Y, RAZ D J. Triptolide inhibits lung cancer cell migration, invasion, and metastasis[J]. *Ann Thorac Surg*, 2015, 100(5): 1817-1824. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2015.05.074.
- [6] ZHANG H, MAO Y X, ZOU X M, *et al.* Triptonide inhibits growth and metastasis in HCC by suppressing EGFR/PI3K/AKT signaling [J]. *Neoplasma*, 2023, 70(1): 94-102. DOI: 10.4149/neo_2022_221118N1112.
- [7] ZHOU K, CHANG Y X, HAN B, *et al.* MicroRNAs as crucial mediators in the pharmacological activities of triptolide (Review)[J/OL]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(5): 499[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33791008/>. DOI: 10.3892/etm.2021.9930.
- [8] LIU Q, WANG W, LI F Q, *et al.* Triptolide inhibits breast cancer cell metastasis through inducing the expression of miR-146a, a negative regulator of rho GTPase[J]. *Oncol Res*, 2019, 27(9): 1043-1050. DOI: 10.3727/096504019X15560124931900.
- [9] JUSOH A R, MOHAN S V, PING T L, *et al.* Plasma circulating mRNAs profiling for identification of potential breast cancer early detection biomarkers[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2021, 22(5): 1375-1381. DOI: 10.31557/APJCP.2021.22.5.1375.
- [10] MACKENZIE T N, MUJUMDAR N, BANERJEE S, *et al.* Triptolide induces the expression of miR-142-3p: a negative regulator of heat shock protein 70 and pancreatic cancer cell proliferation[J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(7): 1266-1275. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-1231.
- [11] ROTHAMMER A, SAGE E K, WERNER C, *et al.* Increased heat shock protein 70 (Hsp70) serum levels and low NK cell counts after radiotherapy-potential markers for predicting breast cancer recurrence? [J/OL]. *Radiat Oncol*, 2019, 14(1): 78[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31077235/>. DOI: 10.1186/s13014-019-1286-0.

- [12] 王进军, 梅凌, 文斌, 等. 雷公藤内酯醇联合 HIF-1 α 抑制剂对人乳腺癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. 中药药理与临床, 2023, 39(10): 59-64. DOI: 10.13412/j.cnki.zyyl.20230525.005.
- [13] JIANG W, CHEN M J, XIAO C C, *et al.* Triptolide suppresses growth of breast cancer by targeting HMGB1 *in vitro* and *in vivo*[J]. Biol Pharm Bull, 2019, 42(6): 892-899. DOI: 10.1248/bpb.b18-00818.
- [14] JIANG J, SONG X W, YANG J, *et al.* Triptolide inhibits proliferation and migration of human neuroblastoma SH-SY5Y cells by upregulating microRNA-181a[J]. Oncol Res, 2018, 26(8): 1235-1243. DOI: 10.3727/096504018X15179661552702.
- [15] DAI S M, LI F J, LONG H Z, *et al.* Relationship between miRNA and ferroptosis in tumors[J/OL]. Front Pharmacol, 2022, 13: 977062 [2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36408273/>. DOI: 10.3389/fphar.2022.977062.
- [16] SHUKLA G C, SINGH J, BARIK S. MicroRNAs: processing, maturation, target recognition and regulatory functions[J]. Mol Cell Pharmacol, 2011, 3(3): 83-92.
- [17] MA T, LIU H D, LIU Y, *et al.* USP6NL mediated by LINC00689/miR-142-3p promotes the development of triple-negative breast cancer[J/OL]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 998[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33054738/>. DOI: 10.1186/s12885-020-07394-z.
- [18] LIANG L, FU J J, WANG S R, *et al.* MiR-142-3p enhances chemosensitivity of breast cancer cells and inhibits autophagy by targeting HMGB1[J]. Acta Pharm Sin B, 2020, 10(6): 1036-1046. DOI: 10.1016/j.apsb.2019.11.009.
- [19] 陈茂剑, 肖潺潺, 王丽, 等. 雷公藤甲素对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖和凋亡的影响及其机制[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(23): 3867-3870. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2017.23.005.
- [20] SAHA T, SOLOMON J, SAMSON A O, *et al.* Invasion and metastasis as a central hallmark of breast cancer[J/OL]. J Clin Med, 2021, 10(16): 3498[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34441794/>. DOI: 10.3390/jcm10163498.
- [21] HONG O Y, JANG H Y, PARK K H, *et al.* Triptolide inhibits matrix metalloproteinase-9 expression and invasion of breast cancer cells through the inhibition of NF- κ B and AP-1 signaling pathways[J/OL]. Oncol Lett, 2021, 22(1): 562[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34093777/>. DOI: 10.3892/ol.2021.12823.
- [22] YU B Y, YANG H Q, ZHANG X M, *et al.* Visualizing and quantifying the effect of the inhibition of HSP70 on breast cancer cells based on laser scanning microscopy[J/OL]. Technol Cancer Res Treat, 2018, 17: 1533033818785274[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30175665/>. DOI: 10.1177/1533033818785274.
- [23] ALBAKOVA Z, ARMEEV G A, KANEVSKIY L M, *et al.* HSP70 multi-functionality in cancer[J/OL]. Cells, 2020, 9(3): 587[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32121660/>. DOI: 10.3390/cells9030587.
- [24] JAGADISH N, AGARWAL S, GUPTA N, *et al.* Heat shock protein 70-2 (HSP70-2) overexpression in breast cancer[J/OL]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 35(1): 150[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27658496/>. DOI: 10.1186/s13046-016-0425-9.
- [25] CORREIA DE SOUSA M, GJORGJEVA M, DOLICKA D, *et al.* Deciphering miRNAs' action through miRNA editing[J/OL]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): 6249[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31835747/>. DOI: 10.3390/ijms20246249.
- [收稿日期] 2023-12-05 [修回日期] 2024-02-15
[本文编辑] 向正华