

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2026.07.005

· 基础研究 ·

姜黄素及其代谢产物四氢姜黄素对乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞多柔比星耐药的逆转作用及其可能的机制

孙小虎^{1,2,3,4}, 王蕴华⁵, 刘燕⁶, 孟然^{1,2,3,4}, 曹旭晨^{1,2,3,4} (1. 天津医科大学肿瘤医院 国家恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060; 2. 天津市肿瘤防治重点实验室, 天津 300060; 3. 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060; 4. 乳腺癌防治教育部重点实验室, 天津 300060; 5. 天津中医药大学 公共卫生与健康科学学院, 天津 300193; 6. 天津市中医药研究院附属医院 药学部, 天津 300091)

[摘要] **目的:**探讨姜黄素及其代谢产物四氢姜黄素对乳腺癌多柔比星耐药细胞 MCF-7/ADR 耐药性的逆转作用及其可能机制。**方法:**采用 CCK-8 法检测姜黄素和四氢姜黄素对 MCF-7/ADR 细胞增殖的抑制作用及对多柔比星耐药性的逆转作用;采用划痕愈合实验和 Transwell 实验分别检测细胞迁移和侵袭能力;采用流式细胞术检测细胞凋亡;采用实时荧光定量 PCR 和 WB 法分别检测谷胱甘肽 S-转移酶 π -1 (GSTP1)、Janus 激酶 1 (JAK1) 和信号转导与转录激活因子 3 (STAT3) mRNA, 以及 GSTP1、JAK1、磷酸化 JAK1 (p-JAK1)、STAT3 和磷酸化 STAT3 (p-STAT3) 蛋白的表达。**结果:**姜黄素和四氢姜黄素均呈浓度依赖性抑制 MCF-7/ADR 细胞增殖, 四氢姜黄素的 IC_{50} 为 $(18.62 \pm 2.15) \mu\text{mol/L}$, 显著低于姜黄素的 $(37.45 \pm 3.28) \mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$); 两者均可增强多柔比星对 MCF-7/ADR 细胞增殖的抑制作用, 四氢姜黄素的耐药逆转指数 (4.82) 高于姜黄素 (2.96) ($P < 0.05$)。两种药物均呈浓度依赖性抑制 MCF-7/ADR 细胞迁移和侵袭并促进细胞凋亡, 同时下调 GSTP1、JAK1 和 STAT3 mRNA, 以及 GSTP1、p-JAK1 和 p-STAT3 蛋白的表达 (与 $0 \mu\text{mol/L}$ 组相比, 均 $P < 0.05$)。与 $0 \mu\text{mol/L}$ 组相比, $80 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素或四氢姜黄素处理后, 细胞划痕愈合率和侵袭细胞数均显著降低, 细胞凋亡率显著升高 (均 $P < 0.05$)。**结论:**姜黄素及其代谢产物四氢姜黄素可逆转乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞对多柔比星的耐药性, 其机制可能与抑制细胞迁移和侵袭、促进细胞凋亡、下调 GSTP1 表达, 以及抑制 JAK1 和 STAT3 的磷酸化有关。

[关键词] 谷胱甘肽 S-转移酶 π -1; JAK1/STAT3 信号通路; 姜黄素; 四氢姜黄素; 乳腺癌; 耐药性; 多柔比星

[中图分类号] R737.9; R730.53 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2026)07-0746-08

Curcumin and its metabolite tetrahydrocurcumin reverse doxorubicin resistance in MCF-7/ADR breast cancer cells: possible mechanisms

Sun Xiaohu^{1,2,3,4}, Wang Yunhua⁵, Liu Yan⁶, Meng Ran^{1,2,3,4}, Cao Xuchen^{1,2,3,4} (1. Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China; 2. Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin 300060, China; 3. Tianjin Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China; 4. Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University, Ministry of Education, Tianjin 300060, China; 5. School of Public Health and Health Sciences, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 6. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Tianjin Academy of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300091, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of curcumin and its metabolite tetrahydrocurcumin on reversing doxorubicin resistance in MCF-7/ADR breast cancer cells and to explore the possible mechanisms. **Methods:** The inhibitory effects of curcumin and tetrahydrocurcumin on MCF-7/ADR cell proliferation and their effects on the reversal of doxorubicin resistance were assessed using the CCK-8 assay. Cell migration and invasion were evaluated using wound-healing and Transwell assays, respectively. Apoptosis was analyzed by flow cytometry. The mRNA levels of glutathione S-transferase π 1 (GSTP1), Janus kinase 1 (JAK1), and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), as well as the protein levels of GSTP1, JAK1, phosphorylated JAK1 (p-JAK1), STAT3, and phosphorylated STAT3 (p-STAT3), were measured by quantitative real-time PCR and WB assay, respectively. **Results:** Both curcumin and tetrahydrocurcumin inhibited MCF-7/ADR cell proliferation in a concentration-dependent manner. The IC_{50} of tetrahydrocurcumin (18.62 ± 2.15) $\mu\text{mol/L}$ was significantly lower than that of curcumin (37.45 ± 3.28) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$). Both compounds enhanced the

[基金项目] 国家自然科学基金(82274221);天津市医学重点学科(专科)建设项目(TJYXZDXK-009A)

[作者简介] 孙小虎,男,博士,主治医师

[通信作者] 曹旭晨(扫码获取作者通信方式)



inhibitory effect of doxorubicin on MCF-7/ADR cell proliferation, and the resistance reversal index of tetrahydrocurcumin (4.82) was significantly higher than that of curcumin (2.96) ($P < 0.05$). Compared with the 0 $\mu\text{mol/L}$ groups, both compounds inhibited MCF-7/ADR cell migration and invasion in a concentration-dependent manner, promoted apoptosis, and downregulated GSTP1, JAK1, and STAT3 mRNA expression as well as GSTP1, p-JAK1, and p-STAT3 protein expression (all $P < 0.05$). Treatment with 80 $\mu\text{mol/L}$ curcumin or tetrahydrocurcumin significantly reduced the wound-healing rate and the number of invading cells and significantly increased the apoptosis rate (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Curcumin and its metabolite tetrahydrocurcumin can reverse doxorubicin resistance in MCF-7/ADR breast cancer cells, possibly by inhibiting cell migration and invasion, promoting apoptosis, downregulating GSTP1 expression, and suppressing the phosphorylation of JAK1 and STAT3.

[Key words] glutathione S-transferase pi 1 (GSTP1); JAK1/STAT3 signaling pathway; curcumin; tetrahydrocurcumin; breast cancer; drug resistance; doxorubicin

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(7): 746-753. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2026.07.005]

乳腺癌是一种常见的、高度异质性恶性肿瘤,其发病率在全球女性恶性肿瘤中居首位,病死率高^[1]。自20世纪90年代以来,中国乳腺癌发病率呈上升趋势。目前,乳腺癌的治疗主要包括手术、化疗、放疗、靶向治疗和免疫治疗等。尽管乳腺癌的诊疗取得了显著进展,部分患者的总体生存期仍较短^[2]。化疗仍是乳腺癌的主要治疗方法之一,蒽环类药物是乳腺癌化疗的重要药物^[3]。然而,长期接受蒽环类药物治疗可能产生耐药性,导致疗效下降,甚至治疗失败,并增加肿瘤复发风险^[4]。因此,探索安全、有效的化疗耐药逆转策略具有重要意义。多柔比星是蒽环类药物的代表性药物,可通过干扰肿瘤细胞DNA复制和修复抑制细胞增殖^[5],临床上广泛用于乳腺癌化疗。姜黄素是中药姜黄的主要活性成分之一,已有研究表明其可抑制膀胱癌、乳腺癌、肺癌等肿瘤细胞的生长^[6]。四氢姜黄素是姜黄素在体内的主要代谢产物和活性形式之一,具有抗肿瘤作用^[7-8]。目前,关于姜黄素和四氢姜黄素逆转乳腺癌细胞多柔比星耐药作用的对比研究较少。本研究以多柔比星耐药乳腺癌细胞MCF-7/ADR为研究对象,比较姜黄素及其代谢产物四氢姜黄素对多柔比星耐药的逆转作用,并从细胞迁移、侵袭、凋亡及谷胱甘肽S-转移酶 π -1 (glutathione S-transferase pi 1, GSTP1)/Janus激酶1 (Janus kinase 1, JAK1)/信号转导与转录激活因子3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)信号通路等方面探讨其可能机制,以期为乳腺癌多柔比星耐药的干预及相关候选药物的进一步开发提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

多柔比星耐药乳腺癌细胞株MCF-7/ADR购自上海生科院细胞资源中心。姜黄素和四氢姜黄素购自成都麦德生科技有限公司(纯度均 $> 98.0\%$),多柔比星购自美国Cayman Chemical公司(纯度 $\geq 99\%$),DMEM、0.25%胰蛋白酶溶液和胎牛血清(FBS)购自

美国Gibco公司,CCK-8试剂盒和DMSO购自美国Sigma-Aldrich公司,Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒购自日本Dojindo公司,Transwell小室购自美国Thermo公司,TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司,放射免疫沉淀法(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解液、SDS-PAGE凝胶配制试剂和SDS蛋白上样缓冲液购自北京索莱宝科技有限公司,全蛋白提取试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、 β -actin抗体和HRP-IgG二抗购自碧云天生物技术研究,High-Capacity RNA-to-cDNA Kit和PowerUp SYBR Green Master Mix购自美国Thermo Fisher公司,ECL试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司。实验所用兔抗人单克隆抗体均购自美国Abcam公司,包括抗GSTP1(克隆号EPR8263,货号ab138491)、抗p-JAK1 (Tyr1034/Tyr1035,克隆号EPR1899(2),货号ab138005)、抗JAK1(克隆号EPR24649-58,货号ab324683)、抗p-STAT3 (Tyr705,克隆号EP2147Y,货号ab76315)及抗STAT3(克隆号EPR787Y,货号ab68153)。GSTP1、JAK1、STAT3和GAPDH引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成,序列见表1。ELx800型酶标仪购自美国Bio-Tek公司,DMi8型倒置显微镜购自德国Leica公司,CytoFLEX型流式细胞分析仪购自美国Beckman公司,CFX Connect型荧光定量PCR仪、Trans-Blot Turbo型电泳转膜系统和ChemiDoc MP型化学发光凝胶成像系统购自美国Bio-Rad公司,NanoDrop 2000超微量紫外-可见分光光度计购自美国Thermo Fisher Scientific公司。

1.2 细胞培养

将MCF-7/ADR细胞复苏后置于含10% FBS和1%青-链霉素混合抗生素溶液的DMEM完全培养基中,并加入1 $\mu\text{g/mL}$ 多柔比星以维持耐药性,于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 恒温培养箱中培养。待细胞汇合度约80%时,用胰蛋白酶消化制备单细胞悬液并传代,取第3代对数生长期细胞进行后续实验。

表1 实时荧光定量PCR引物序列

基因	引物序列
GSTP1	F: 5'-GGCTGGCTTTCTTTCTGAT-3' R: 5'-GGCAGGTCAGAAGGTTCTGA-3'
JAK1	F: 5'-GGAGACTGGGAAGCTCTTCCA-3' R: 5'-CAGCCATCTTCCTCATCACTG-3'
STAT3	F: 5'-TGGAGCTGAGAAGACCAGAA-3' R: 5'-GCCTTCTCTGTCTCCTTTCC-3'
GAPDH	F: 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3' R: 5'-TGGTGAATACGCCAGTGGA-3'

1.3 CCK-8法检测姜黄素和四氢姜黄素对MCF-7/ADR耐药细胞增殖的抑制作用

将浓度为 1×10^5 个细胞/mL的MCF-7/ADR细胞悬液以每孔100 μ L接种于96孔培养板,每孔分别加入姜黄素或四氢姜黄素,使其终浓度为0、1、2.5、5、10、20、40、80、120、160和200 μ mol/L,于37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下分别孵育24 h和48 h。用4 $^{\circ}$ C PBS洗涤3次,每孔加入10 μ L CCK-8溶液,继续培养2 h,测定450 nm波长处的吸光度,计算细胞增殖抑制率和半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})。

1.4 CCK-8法检测姜黄素和四氢姜黄素对MCF-7/ADR细胞多柔比星耐药的逆转作用

将浓度为 1×10^5 个细胞/mL的MCF-7/ADR细胞悬液以每孔100 μ L接种于96孔培养板,每孔分别加入姜黄素或四氢姜黄素(0、5、10和20 μ mol/L)和多柔比星(0、1、10、20、40、60和80 μ g/mL),各浓度设6个复孔,于37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下孵育48 h。用4 $^{\circ}$ C PBS洗涤3次,每孔加入10 μ L CCK-8溶液,继续培养2 h,测定450 nm波长处的光密度(D)值,计算细胞增殖抑制率、 IC_{50} 和耐药逆转指数(reversal index, RI)。细胞增殖抑制率 $= (1 - D_{\text{实验组}}/D_{\text{对照组}}) \times 100\%$ 。RI $= \text{IC}_{50}(\text{多柔比星单独处理})/\text{IC}_{50}(\text{多柔比星联合逆转剂处理})$ 。

1.5 划痕愈合实验检测姜黄素和四氢姜黄素对MCF-7/ADR细胞迁移能力的影响

将浓度为 1×10^5 个细胞/mL的MCF-7/ADR细胞悬液以每孔1 mL接种于12孔板。待细胞汇合度达100%后,用10 μ L移液器吸头划出垂直划痕,更换含姜黄素或四氢姜黄素(终浓度:0、20、40和80 μ mol/L)和多柔比星(终浓度:1 μ g/mL)的新鲜培养基。设置空白对照组、多柔比星对照组和联合处理组。空白对照组不加入姜黄素、四氢姜黄素和多柔比星;多柔比星对照组(姜黄素或四氢姜黄素浓度均为0 μ mol/L)加入1 μ g/mL多柔比星;联合处理组在1 μ g/mL多柔比星基础上分别加入20、40或80 μ mol/L姜黄素或四氢

姜黄素。分别于0 h和48 h用倒置显微镜观察细胞迁移情况。观察前用4 $^{\circ}$ C PBS洗涤3次,采用ImageJ图像分析软件测量划痕宽度并计算划痕愈合率。划痕愈合率 $= (W_0 - W_{48})/W_0 \times 100\%$,其中 W_0 为0 h划痕宽度, W_{48} 为48 h划痕宽度。

1.6 Transwell实验检测姜黄素和四氢姜黄素对MCF-7/ADR细胞侵袭能力的影响

将Matrigel基质胶解冻后用DMEM培养基按1:8稀释,每个Transwell小室加入50 μ L,于37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中孵育1~2 h,直至Matrigel完全聚合。将100 μ L浓度为 1×10^5 个细胞/mL的MCF-7/ADR细胞悬液接种于Transwell上室,下室加入含姜黄素或四氢姜黄素(终浓度:0、20、40和80 μ mol/L)和多柔比星(1 μ g/mL)的新鲜培养基,同时设置空白对照组。于37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下培养48 h。取出小室,弃去上室培养液,用PBS洗涤3次,固定,并用结晶紫染色;用棉拭子轻轻擦去未穿膜细胞,在倒置显微镜下随机选取5个200倍视野,计数穿膜细胞。

1.7 流式术检测姜黄素和四氢姜黄素对MCF-7/ADR细胞凋亡的影响

将浓度为 1×10^5 个细胞/mL的MCF-7/ADR细胞悬液以每孔1 mL接种于12孔培养板,加入姜黄素或四氢姜黄素(终浓度:0、20、40和80 μ mol/L)和多柔比星(1 μ g/mL),各浓度设6个复孔,同时设置空白对照组。于37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下孵育48 h后,用0.25%胰蛋白酶消化并收集细胞,以4 $^{\circ}$ C PBS洗涤3次,离心后用Annexin V结合缓冲液重悬。加入异硫氰酸荧光素标记的膜联蛋白V(Annexin V-FITC)和碘化丙啶(propidium iodide, PI),室温避光反应30 min,采用流式细胞仪检测细胞凋亡;激发波长和发射波长分别为488和530 nm。计算每 1×10^4 个细胞中早期和晚期凋亡细胞所占比例。

1.8 实时荧光定量PCR检测姜黄素和四氢姜黄素对MCF-7/ADR细胞相关耐药基因表达的影响

将浓度为 1×10^5 个细胞/mL的MCF-7/ADR细胞悬液以每孔1 mL接种于12孔培养板,加入姜黄素或四氢姜黄素(终浓度:0、20、40和80 μ mol/L)和多柔比星(1 μ g/mL),同时设置空白对照组。于37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下孵育48 h后,用0.25%胰蛋白酶消化并收集细胞,以4 $^{\circ}$ C PBS洗涤3次。采用TRIzol试剂提取总RNA,并使用超微量紫外-可见分光光度计检测RNA样品的浓度和纯度。以A260/A280比值在1.8~2.1之间,且A260/A230比值在1.8~2.2之间判定为合格RNA,用于后续实验。按照逆转录试剂盒说明书,在37 $^{\circ}$ C、15 min; 85 $^{\circ}$ C、5 s; 4 $^{\circ}$ C、10 min条件下将RNA逆转录为cDNA。按照PCR试剂盒说明书配制反应体系,反应条件为95 $^{\circ}$ C

预变性 30 s; 60 °C 退火 60 s; 72 °C 延伸 60 s, 共 40 个循环; 72 °C 终延伸 5 min。以 GAPDH 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 GSTP1、JAK1 和 STAT3 mRNA 的相对表达量。

1.9 WB 法检测姜黄素和四氢姜黄素对 MCF-7/ADR 细胞相关耐药蛋白表达的影响

将浓度为 1×10^5 个细胞/mL 的 MCF-7/ADR 细胞悬液以每孔 1 mL 接种于 12 孔培养板, 加入姜黄素或四氢姜黄素 (终浓度: 0、20、40 和 80 $\mu\text{mol/L}$) 和多柔比星 (终浓度: 1 $\mu\text{g/mL}$), 同时设置空白对照组。于 37 °C、5% CO_2 条件下孵育 48 h 后, 用 0.25% 胰蛋白酶消化并收集细胞, PBS 洗涤 3 次。加入 RIPA 裂解液冰上裂解, 离心收集上清。采用 BCA 法测定蛋白浓度, 蛋白样品于 -20 °C 保存。加入蛋白上样缓冲液后沸水浴 5 min 使蛋白变性。取 50 μg 蛋白样品进行 SDS-PAGE (120 V, 2 h), 随后以 0.3 A 恒流转移至 PVDF 膜, 转膜 2 h。用 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, TBST 洗膜 3 次 (每次 10 min), 加入一抗, 4 °C 孵育过夜; TBST 洗膜 3 次后, 加入 HRP-IgG 二抗, 室温孵育

1 h。再次用 TBST 洗膜 3 次, 加入 ECL 试剂显影, 采用 ChemiDoc MP 型化学发光凝胶成像系统分析蛋白条带相对灰度值。

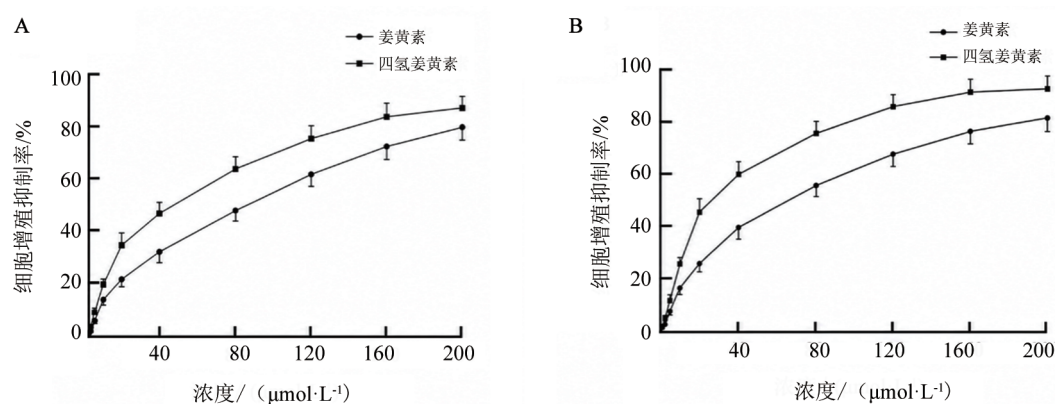
1.10 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间均数比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA); 经 Levene 方差齐性检验, 方差齐时 ($P > 0.05$) 采用最小显著差异法 (LSD) t 检验进行组间两两比较, 方差不齐时采用 Dunnett's T3 检验。两组间比较采用独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

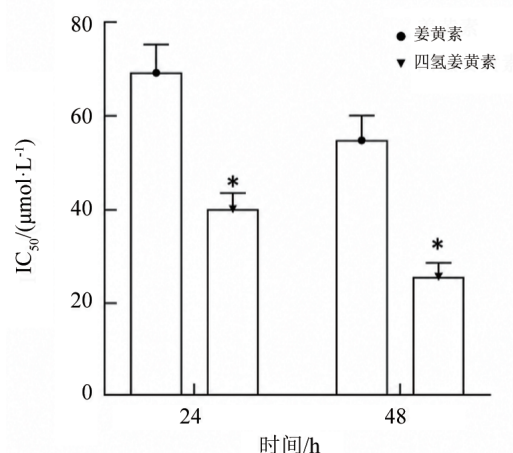
2.1 姜黄素和四氢姜黄素抑制 MCF-7/ADR 细胞增殖

姜黄素和四氢姜黄素均可抑制 MCF-7/ADR 细胞增殖, 且四氢姜黄素的 IC_{50} 显著低于姜黄素 ($P < 0.05$), 见图 1 和图 2。



A: 24 h; B: 48 h。横轴为姜黄素或四氢姜黄素浓度。

图1 姜黄素和四氢姜黄素对 MCF-7/ADR 细胞增殖的抑制作用



与姜黄素处理组相比, * $P < 0.05$ 。

图2 姜黄素和四氢姜黄素抑制 MCF-7/ADR 细胞增殖的 IC_{50} 比较

2.2 姜黄素和四氢姜黄素增强多柔比星对 MCF-7/ADR 细胞的增殖抑制作用

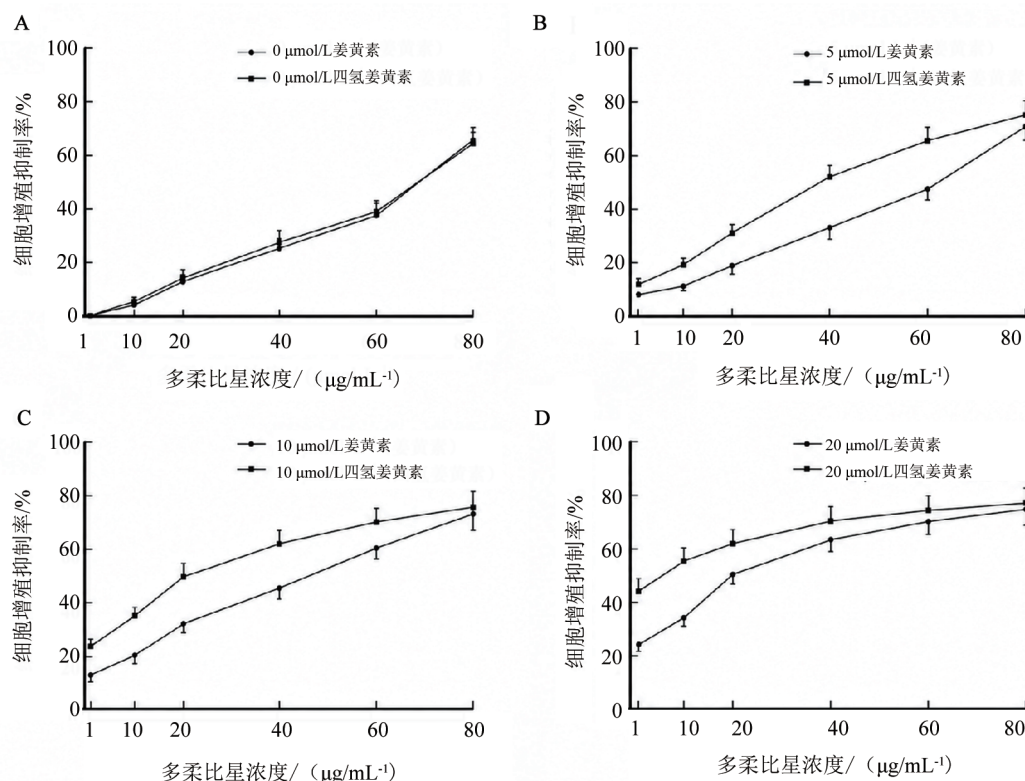
姜黄素和四氢姜黄素均可增强多柔比星对 MCF-7/ADR 细胞增殖的抑制作用, 且四氢姜黄素的作用强于姜黄素 ($P < 0.05$)。当姜黄素或四氢姜黄素浓度为 5、10 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 时, 多柔比星对 MCF-7/ADR 细胞增殖的 IC_{50} 均显著降低 ($P < 0.05$); 四氢姜黄素的耐药逆转指数显著高于姜黄素 ($P < 0.05$), 见图 3 和图 4。

2.3 姜黄素和四氢姜黄素抑制 MCF-7/ADR 细胞迁移

与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比, 姜黄素和四氢姜黄素在 20、40 和 80 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下均抑制 MCF-7/ADR 细胞迁移 ($P < 0.05$), 且呈浓度依赖性特征 (图 5)。

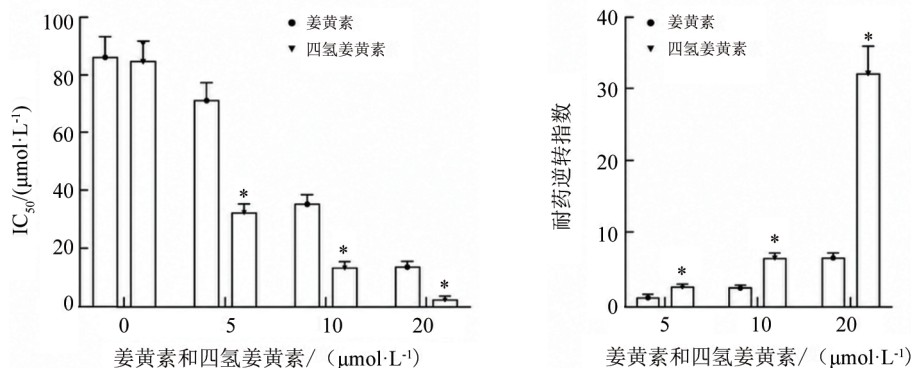
2.4 姜黄素和四氢姜黄素抑制MCF-7/ADR细胞侵袭与0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,姜黄素和四氢姜黄素在20、40

和80 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下均呈浓度依赖性抑制MCF-7/ADR细胞侵袭(图6, $P < 0.05$)。



姜黄素和四氢姜黄素浓度:0 $\mu\text{mol/L}$ (A),5 $\mu\text{mol/L}$ (B),10 $\mu\text{mol/L}$ (C),20 $\mu\text{mol/L}$ (D)。

图3 不同浓度姜黄素和四氢姜黄素对多柔比星抑制MCF-7/ADR细胞增殖的影响



与姜黄素处理组相比,* $P < 0.05$ 。

图4 姜黄素和四氢姜黄素对MCF-7/ADR细胞多柔比星耐药的逆转作用比较

2.5 姜黄素和四氢姜黄素促进MCF-7/ADR细胞凋亡

与0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,姜黄素和四氢姜黄素在20、40和80 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下均呈浓度依赖性促进MCF-7/ADR细胞凋亡($P < 0.05$),见图7。

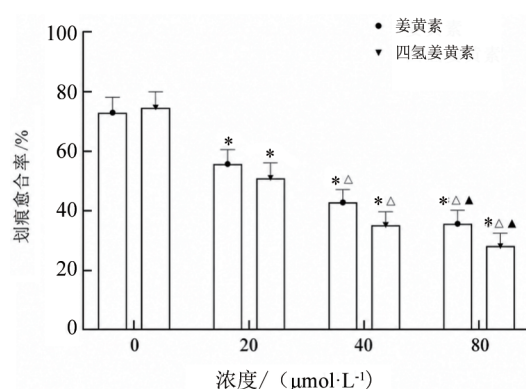
2.6 姜黄素和四氢姜黄素下调MCF-7/ADR细胞中相关耐药基因表达

与0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,姜黄素和四氢姜黄素在20、40和80 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下均呈浓度依赖性下调MCF-7/ADR细胞中GSTP1、JAK1和STAT3 mRNA的表达($P < 0.05$),

见图8。

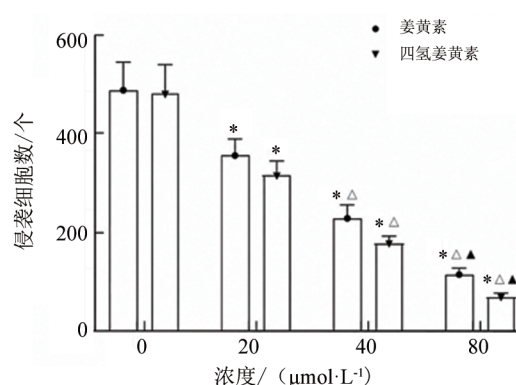
2.7 姜黄素和四氢姜黄素下调MCF-7/ADR细胞中相关耐药蛋白表达

与0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,姜黄素和四氢姜黄素在20、40和80 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下均呈浓度依赖性下调MCF-7/ADR细胞中GSTP1、p-JAK1和p-STAT3蛋白的表达($P < 0.05$),但对JAK1和STAT3总蛋白表达无显著影响($P > 0.05$),见图9。



与 0 μmol/L 组相比, * $P < 0.05$; 与 20 μmol/L 组相比, Δ $P < 0.05$;
与 40 μmol/L 组相比, ▲ $P < 0.05$ 。

图5 姜黄素和四氢姜黄素对 MCF-7/ADR 细胞迁移能力的影响



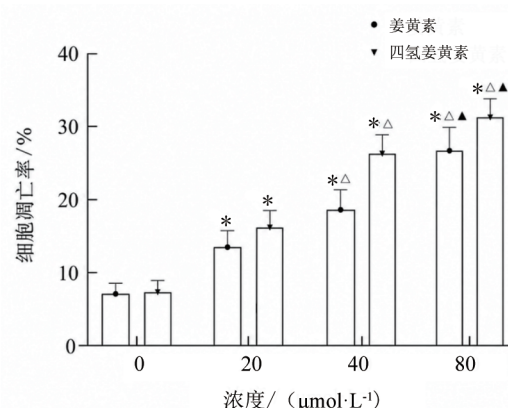
与 0 μmol/L 组相比, * $P < 0.05$; 与 20 μmol/L 组相比, Δ $P < 0.05$;
与 40 μmol/L 组相比, ▲ $P < 0.05$ 。

图6 姜黄素和四氢姜黄素对 MCF-7/ADR 细胞侵袭能力的影响

3 讨论

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤之一。2020 年中国乳腺癌患者超过 42 万例, 且呈逐年升高的趋势, 其发病率在中国恶性肿瘤中排第 4 位^[9], 治疗效果仍有待提高。近 10 年来, 乳腺癌的诊断和治疗不断进步, 但化疗耐药和肿瘤转移仍导致较高的复发率和病死

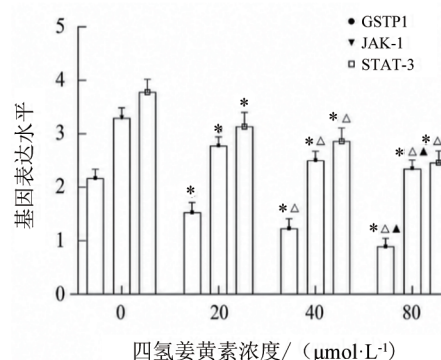
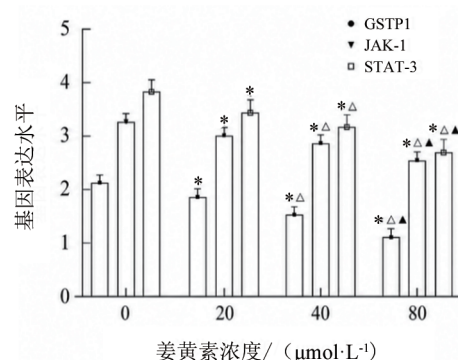
率^[10]。化疗是乳腺癌综合治疗的重要组成部分, 蒽环类药物在辅助化疗中发挥重要作用^[11]。多柔比星是临床常用的蒽环类抗肿瘤药物, 可干扰 DNA 复制、转录和翻译, 抑制细胞有丝分裂, 广泛用于乳腺癌术后辅助治疗、新辅助治疗及转移或复发后的治疗^[12]。然而, 多柔比星耐药是导致治疗失败和复发的重要因素。因此, 寻找安全、有效的耐药逆转剂是乳腺癌治疗研究的重要方向。



与 0 μmol/L 组相比, * $P < 0.05$; 与 20 μmol/L 组相比, Δ $P < 0.05$;
与 40 μmol/L 组相比, ▲ $P < 0.05$ 。

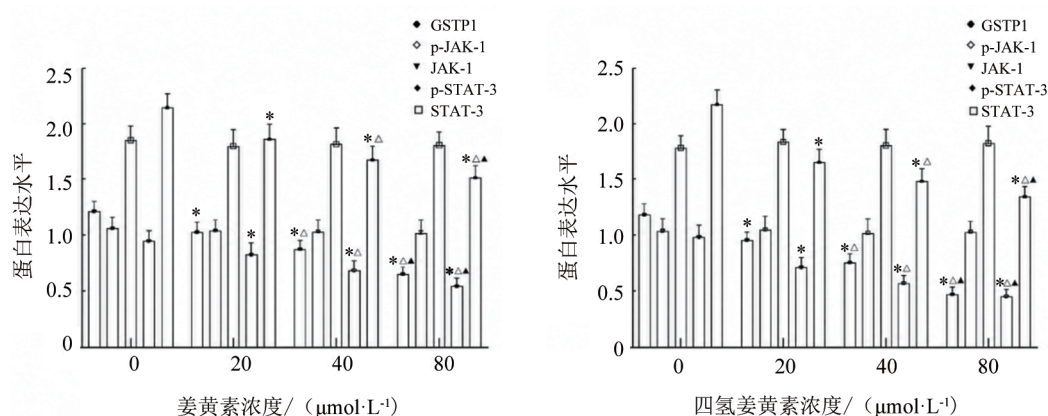
图7 姜黄素和四氢姜黄素对 MCF-7/ADR 细胞凋亡的促进作用

近年来, 中药及其活性成分的抗肿瘤作用和逆转化疗耐药机制受到广泛关注。姜黄为姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的干燥根茎, 归心、肝、脾经, 具有破血行气、通经止痛的功效。姜黄素是姜黄的主要活性成分, 具有抗氧化、抗炎、抑菌、抗病毒和调节血脂等作用; 其可通过多靶点、多通路发挥抗肿瘤作用, 但水溶性差和生物利用度低限制了临床应用。四氢姜黄素是姜黄素在体内的主要代谢产物, 具有较好的水溶性和稳定性, 可作为耐药逆转研究的候选化合物^[13]。



与 0 μmol/L 组相比, * $P < 0.05$; 与 20 μmol/L 组相比, Δ $P < 0.05$; 与 40 μmol/L 组相比, ▲ $P < 0.05$ 。

图8 姜黄素和四氢姜黄素对 MCF-7/ADR 细胞中相关耐药基因表达的影响



与0 μmol/L组相比,* $P < 0.05$;与20 μmol/L组相比, $\Delta P < 0.05$;与40 μmol/L组相比, $\Delta P < 0.05$ 。

图9 姜黄素和四氢姜黄素对MCF-7/ADR细胞中相关耐药蛋白表达的影响

本研究比较姜黄素与四氢姜黄素对MCF-7/ADR细胞耐药性的逆转作用,两者均能增强多柔比星的细胞毒性,但四氢姜黄素的 IC_{50} 更低、耐药逆转指数更高,提示四氢姜黄素在本细胞模型中的作用更强。结合既往研究,其理化性质和代谢稳定性可能有助于提高生物活性,但仍需体内实验验证。

肿瘤复发和转移与肿瘤细胞迁移、侵袭密切相关,化疗耐药也与细胞凋亡障碍有关;肿瘤细胞可通过凋亡逃逸产生耐药性^[14]。因此,促进耐药肿瘤细胞凋亡是提高化疗敏感性或逆转耐药的重要途径^[15]。本研究显示,姜黄素和四氢姜黄素均呈浓度依赖性抑制MCF-7/ADR细胞迁移和侵袭,并促进细胞凋亡,提示两种药物可能同时改善耐药相关的迁移、侵袭和凋亡表型。

人GSTP1基因定位于染色体11q13,含7个外显子,其编码蛋白的相对分子质量约为23 000^[16-18]。GSTP1在维持细胞氧化还原平衡、调节肿瘤发生及抵抗组织损伤中发挥重要作用^[19]。GSTP1在卵巢癌、乳腺癌、结肠癌和胰腺癌等肿瘤细胞中高表达,其异常表达与多种肿瘤进展相关^[20]。GSTP1高表达与化疗耐药密切相关,可作为耐药相关标志物。JAK1/STAT3信号通路参与肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭、凋亡及治疗耐药等过程^[21]。研究显示^[22],GSTP1可通过调节STAT3表达影响MCF-7细胞增殖及多柔比星耐药。本研究发现,姜黄素和四氢姜黄素可下调GSTP1、JAK1和STAT3 mRNA以及GSTP1、p-JAK1和p-STAT3蛋白表达,而对JAK1和STAT3总蛋白表达无显著影响,提示两种药物可能通过抑制JAK1和STAT3的磷酸化并下调GSTP1表达,协同逆转多柔比星耐药。上述结果为进一步研究姜黄素类化合物的耐药逆转机制提供了实验依据。

本研究提示四氢姜黄素在MCF-7/ADR细胞耐药逆转方面可能优于姜黄素,为克服姜黄素临床应

用局限提供了新的研究思路。本研究仍存在一定局限性:未开展体内实验验证耐药逆转效果,也未深入分析信号通路上下游分子的相互作用。后续可采用动物模型验证四氢姜黄素的体内活性,并结合蛋白质组学、代谢组学等技术解析其调控网络。

综上,姜黄素及其体内代谢产物四氢姜黄素可能通过下调GSTP1表达,抑制JAK1和STAT3的磷酸化,抑制细胞迁移和侵袭,并促进细胞凋亡,逆转乳腺癌MCF-7/ADR细胞对多柔比星的耐药性。本研究为进一步评价其作为乳腺癌化疗耐药干预候选物的应用价值提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
- [2] Barzaman K, Karami J, Zarei Z, et al. Breast cancer: biology, biomarkers, and treatments[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 84: 106535. DOI:10.1016/j.intimp.2020.106535.
- [3] Cespedes Feliciano E M, Chen W Y, Lee V, et al. Body composition, adherence to anthracycline and taxane-based chemotherapy, and survival after nonmetastatic breast cancer[J]. JAMA Oncol, 2020, 6(2): 264. DOI: 10.1001/jamaoncol.2019.4668.
- [4] Flores-Balcázar C H, Flores-Luna M L, Villarreal-Garza C M, et al. Provider delay in treatment initiation and its influence on survival outcomes in women with operable breast cancer[J]. Rep Pract Oncol Radiother, 2020, 25(2): 271-275. DOI:10.1016/j.rpor.2020.02.002.
- [5] Yaghoobi E, Zavvar T, Ramezani M, et al. A multi-storey DNA nanostructure containing doxorubicin and AS1411 aptamer for targeting breast cancer cells[J]. J Drug Target, 2022, 30(10): 1106-1112. DOI:10.1080/1061186X.2022.2094387.

- [6] Hu S, Xu Y C, Meng L W, et al. Curcumin inhibits proliferation and promotes apoptosis of breast cancer cells [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(2): 1266-1272. DOI:10.3892/etm.2018.6345.
- [7] Lai C S, Ho C T, Pan M H. The cancer chemopreventive and therapeutic potential of tetrahydrocurcumin[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(6): 831. DOI:10.3390/biom10060831.
- [8] 张敏, 华桦, 曾安琪, 等. 四氢姜黄素对 MCF-7 细胞增殖、凋亡及转移的作用[J]. *中成药*, 2022, 44(3): 942-947. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.03.047.
- [9] Cao W, Chen H D, Yu Y W, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020[J]. *Chin Med J*, 2021, 134(7): 783-791. DOI:10.1097/cm9.0000000000001474.
- [10] 赵妍, 吉柳, 孙成鹏, 等. miR-101-3p 通过靶向下调 GALNT1 逆转乳腺癌多西他赛耐药的分子机制[J]. *沈阳药科大学学报*, 2024, 41(6): 726-733.
- [11] 刘涵聪, 林培彬, 张雅儿, 等. 灵菌红素对耐阿霉素乳腺癌细胞体外活性影响[J]. *中国药理学通报*, 2022, 38(6): 865-873. DOI:10.12360/CPB202109076.
- [12] Li J B, Jiang Z F. Chinese Society of Clinical Oncology Breast Cancer (CSCO BC) guidelines in 2022: stratification and classification[J]. *Cancer Biol Med*, 2022, 19(6): 1-5. DOI:10.20892/j.issn.2095-3941.2022.0277.
- [13] Zhao F, Gong Y D, Hu Y, et al. Curcumin and its major metabolites inhibit the inflammatory response induced by lipopolysaccharide: Translocation of nuclear factor- κ B as potential target[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(4): 3087-3093. DOI:10.3892/mmr.2014.3079.
- [14] Ngoi N Y L, Choong C, Lee J, et al. Targeting mitochondrial apoptosis to overcome treatment resistance in cancer[J]. *Cancers*, 2020, 12(3): 574. DOI: 10.3390/cancers12030574.
- [15] 周薇, 高丹丹, 李军华. 抑制高迁移率族蛋白 1 表达逆转肝癌细胞 Bel-7402/ADM 耐药机制研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2021, 28(6): 435-441. DOI:10.16073/j.cnki.cjcp.2021.06.05.
- [16] Board P G, Webb G C, Coggan M. Isolation of a cDNA clone and localization of the human glutathione S-transferase 3 genes to chromosome bands 11q13 and 12q13-14[J]. *Ann Hum Genet*, 1989, 53(3): 205-213. DOI:10.1111/j.1469-1809.1989.tb01786.x.
- [17] Morrow C S, Cowan K H, Goldsmith M E. Structure of the human genomic glutathione S-transferase-pi gene[J]. *Gene*, 1989, 75(1): 3-11. DOI:10.1016/0378-1119(89)90377-6.
- [18] Huang Y C, Misquitta S, Blond S Y, et al. Catalytically active monomer of glutathione S-transferase pi and key residues involved in the electrostatic interaction between subunits[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(47): 32880-32888. DOI:10.1074/jbc.M805484200.
- [19] Cui J, Li G Q, Yin J, et al. GSTP1 and cancer: Expression, methylation, polymorphisms and signaling (Review)[J]. *Int J Oncol*, 2020, 56(4): 867-878. DOI:10.3892/ijo.2020.4979.
- [20] Tew K D. Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(1): 7-9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3143.
- [21] Sabaawy H E, Ryan B M, Khiabani H, et al. JAK/STAT of all trades: linking inflammation with cancer development, tumor progression and therapy resistance[J]. *Carcinogenesis*, 2021, 42(12): 1411-1419. DOI:10.1093/carcin/bgab075.
- [22] 戴素华, 嵇晓艳, 戴夕超. GSTP1 通过调控 STAT3 信号通路促进乳腺癌细胞增殖与阿霉素耐药[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2024, 29(2): 114-119. DOI:10.3969/j.issn.1009-0460.2024.02.003.

[收稿日期] 2026-02-10 [修回日期] 2026-07-22

[本文编辑] 黄静怡