熊果酸对IL-6介导的乳腺癌细胞侵袭与迁移的抑制作用Δ

刘荣荣*，张　涛，相芬芬，陈自喜，张孟哲，康向东，吴　蓉#（上海中医药大学附属普陀医院检验科，上海 200062）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）08-0955-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.08.12

摘　要　目的　探讨熊果酸对白细胞介素6（IL-6）介导的乳腺癌MDA-MB-231细胞（简称“231细胞”）的侵袭与迁移的抑制作用。**方法**　采用CCK-8法检测20、40、80、160、320 μmol/L熊果酸对231细胞增殖率的影响。将细胞分为对照组、模型组和给药组，划痕实验与Transwell实验检测细胞的迁移能力与侵袭能力；实时荧光定量聚合酶链式反应（q-PCR）法与Western blot法检测细胞上皮间质转化相关标志物E钙黏蛋白（E-cad）、基质金属蛋白酶2（MMP2）、MMP9、波形蛋白（Vim）、CD44分子（CD44）、醛脱氢酶1家族成员A1（ALDH1A1）mRNA与蛋白的相对表达情况；Western blot法检测Janus激酶2/信号转导及转录激活因子3（JAK2/STAT3）通路中JAK2、STAT3的磷酸化水平[以磷酸化JAK2（p-JAK2）/JAK2比值、磷酸化STAT3（p-STAT3）/STAT3比值计]。**结果**　实验选取熊果酸低浓度20 μmol/L（对细胞增殖能力无明显抑制作用）作为后续给药浓度。与对照组比较，模型组细胞的迁移、侵袭能力均显著增强（$P<0.05$）；与模型组比较，给药组细胞的迁移、侵袭能力均显著降低（$P<0.05$）。与对照组比较，模型组细胞中上皮间质转化相关标志物MMP9、MMP2、Vim、ALDH1A1、CD44 mRNA与蛋白的相对表达量均有不同程度的升高，E-cad mRNA与蛋白的相对表达量均有不同程度的降低，部分差异有统计学意义（$P<0.05$），p-JAK2/JAK2比值、p-STAT3/STAT3比值均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，给药组细胞中上述指标的表达均有一定程度逆转。**结论**　熊果酸通过阻断JAK2/STAT3信号通路的激活进而抑制炎症因子IL-6诱导的上皮间质转化过程，最终抑制乳腺癌细胞的侵袭、迁移。

关键词　熊果酸；白细胞介素6；乳腺癌；Janus激酶2/信号转导及转录激活因子3通路；侵袭；迁移

Inhibitory effects of ursolic acid on IL-6-mediated invasion and migration of breast cancer cells

LIU Rongrong, ZHANG Tao, XIANG Fenfen, CHEN Zixi, ZHANG Mengzhe, KANG Xiangdong, WU Rong (Dept. of Laboratory, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the inhibitory effects of ursolic acid on interleukin-6 (IL-6)-mediated invasion and migration of breast cancer MDA-MB-231 cells (hereinafter referred to as "231 cells"). **METHODS** The effects of 20, 40, 80, 160 and 320 μmol/L ursolic acid on the proliferation rate of 231 cells were measured by CCK-8 method. The breast cancer 231 cells were divided into control group, model group and administration group. The migration and invasion abilities of cells were detected by scratch assay and Transwell assay. Real-time quantitative polymerase chain reaction (q-PCR) assay and Western blot assay were used to detect the mRNA and protein expressions of epithelial-mesenchymal transition-related makers such as E cadherin (E-cad), matrix metalloprotein 2 (MMP2), MMP9, vimentin (Vim), CD44 molecule (CD44) and aldehyde dehydrogenase 1 family member A1 (ALDH1A1). The phosphorylation levels of JAK2 and STAT3 in the Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 (JAK2/STAT3) signaling pathway (in terms of p-JAK2/JAK2 ratio and p-STAT3/STAT3 ratio) were detected by Western blot assay. **RESULTS** A low concentration of ursolic acid of 20 μmol/L (no significant inhibitory effect on cell proliferation ability) was selected as the subsequent administration concentration. Compared with the control group, the migration and invasion abilities of cells in the model group were significantly enhanced ($P<0.05$); compared with the model group, the migration and invasion abilities of cells in the administered group were significantly reduced ($P<0.05$). Compared with the control group, the relative mRNA and protein expressions of epithelial-mesenchymal transition-related markers MMP9, MMP2, Vim, ALDH1A1 and CD44 were all elevated to different extents, and the mRNA and protein expressions of E-cad were all decreased to different extents in the model group cells, and part of the differences had statistical significance ($P<0.05$), the p-JAK2/JAK2 ratio and p-STAT3/STAT3 ratio were significantly increased in the model group ($P<0.05$); compared with the model group, the expressions of the above indicators were reversed to some extent in the administration group. **CONCLUSIONS** Ursolic acid blocks the activation of JAK2/STAT3 signaling pathway and thus inhibits the epithelial-mesenchymal transition induced

Δ**基金项目**　上海市“医苑新星”青年医学人才培养资助计划项目（No.沪卫计人事〔2019〕72号）；上海市普陀区卫生健康系统科技创新项目（No.ptkwws202307）；上海市普陀区中心医院科研启航计划项目（No.2022-RCQH-03）

*　**第一作者**　硕士研究生。研究方向：中药逆转肿瘤侵袭与转移的分子机制。E-mail：1064417934@qq.com

#　**通信作者**　主任技师，硕士生导师。研究方向：中药逆转肿瘤侵袭与转移的分子机制。E-mail：rong701@126.com

by the inflammatory factor IL-6, which ultimately interrupts the invasion and metastasis of breast cancer cells.
KEYWORDS ursolic acid; IL-6; breast cancer; JAK2/STAT3 pathway; invasion; migration

乳腺癌是发生在乳腺导管或上皮的恶性肿瘤，严重影响着女性的身心健康，研究报道其发病率已经超过肺癌，成为危害女性生命安全的第一大恶性肿瘤[1]。即使治疗方案不断更新，仍有部分患者在进行手术或放化疗后发生远处转移，这是治疗失败的主要原因之一。白细胞介素6（interleukin 6，IL-6）是肿瘤微环境中间质细胞与肿瘤细胞、间质细胞之间“相互交流”的重要媒介[2]。其可激活下游Janus激酶2（Janus kinase 2，JAK2）与信号转导及转录激活因子3（signal transduction and activator of transcription 3，STAT3），进而调控肿瘤细胞的生物学行为，如诱导肿瘤细胞增殖、上皮间质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）及化疗药物耐药等恶性行为[3]。EMT的发生是一个动态过程，在此期间上皮来源的肿瘤细胞失去黏附特性，骨架蛋白重构，向间质细胞转变。EMT是肿瘤复发与远处转移的基础与重要环节。因此，寻找能够逆转肿瘤EMT过程的药物对肿瘤转移的防治至关重要。

中药天然成分熊果酸是一种五环三萜类化合物，具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种功效[4]。既往研究表明，熊果酸能够抑制非小细胞肺癌[5]、胃癌[6]、肝癌[7]等肿瘤的增殖、侵袭与迁移、血管生成等恶性行为，并可减弱乳腺癌MCF-7细胞的侵袭能力[8]。Zhang等[9]研究显示，熊果酸可以核转录因子红系2相关因子2为靶点抑制乳腺癌细胞的增殖；Jiang等[10]研究表明，熊果酸可通过丝裂原活化蛋白激酶途径促进乳腺癌细胞凋亡。除此之外，熊果酸也可对抗肿瘤的侵袭与迁移，可作用于p53肿瘤蛋白等分子进而下调基质金属蛋白酶2（matrix metalloprotein 2，MMP2）与MMP9等间质标志物的表达[11]。但其是否能通过JAK2/STAT3通路抑制乳腺癌MDA-MB-231细胞（简称“231细胞”）的侵袭、迁移，具体机制还有待探讨。本研究中采用IL-6刺激人乳腺癌231细胞，增强其侵袭、迁移的能力，观察中药单体熊果酸能否减弱IL-6促侵袭、迁移效应，为后续研究熊果酸抑制乳腺癌侵袭与迁移的作用机制提供理论支持。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有MCO-18AIC型CO_2培养箱（日本Sanyo公司），HR40-ⅡA2型生物安全柜（青岛海尔特种电器有限公司），Varioskan型多功能酶标仪、ⅦA7DX型实时荧光定量聚合酶链式反应（real-time quantitative polymerase chain reaction，q-PCR）仪（美国Thermo Fisher Scientific公司），Colibri型超微量级分光光度计（德国Berthold公司），DMI1型显微镜（德国Leica公司），LAS500型化学发光成像系统（日本Cytiva公司）等。

1.2 主要药品与试剂

胎牛血清（批号WFQ0004）与L-15培养基（批号AG29798283）均购自美国Hyclone公司；CCK-8试剂盒（批号CK04）购自日本同仁化学研究所；IL-6冻干粉（批号HY-P7044）购自美国MedChemExpress公司；熊果酸（原料药，批号S2307）购自美国Selleck公司；人GAPDH内参引物（批号B661104）及其他基因引物由上海生工生物有限公司合成；鼠源GAPDH单克隆抗体，兔源JAK2、磷酸化JAK2（p-JAK2）、MMP9、波形蛋白（vimentin，Vim）、CD44分子（CD44 molecule，CD44）、醛脱氢酶1家族成员A1（aldehyde dehydrogenase 1 family member A1，ALDH1A1）单克隆抗体，辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记的山羊抗鼠二抗均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司（批号分别为2118S、A19629、AP0531、A0289、A19607、A19020、A0157、AS003）；鼠源STAT3单克隆抗体和兔源磷酸化STAT3（p-STAT3）、E钙黏蛋白（E-cadherin，E-cad）单克隆抗体均购自美国Cell Signaling Technology公司（批号分别为9139S、9145T、3195T）；兔源MMP2单克隆抗体（批号EPR1184）购自英国Abcam公司；HRP标记的山羊抗兔二抗（批号LZ2A002）购自上海莱兹生物科技有限公司；ECL化学发光显影液（批号P90719）购自美国Millipore公司。

1.3 实验细胞

乳腺癌231细胞株购自中国科学院上海细胞库。

2 方法

2.1 熊果酸对231细胞增殖率影响的检测

采用CCK-8法检测熊果酸对231细胞增殖的影响。231细胞生长在含10%胎牛血清、1%双抗的L-15完全培养基中，37 ℃无CO_2培养2～3 d，待其至生长对数期，消化后配制细胞悬液（1×10^5个/mL）。取100 μL种于96孔板中，将细胞分为空白组（只有培养基，不铺细胞）、正常组（正常培养细胞）与实验组（20、40、80、160、320 μmol/L熊果酸），每组设置6个复孔。熊果酸作用48 h后每孔加入10 μL CCK-8溶液，37 ℃下孵育2 h，于酶标仪450 nm波长处测量光密度（OD）值。熊果酸浓度梯度与作用时间是依据前期课题组研究基础确定的[12]。计算细胞增殖率，细胞增殖率（%）=（实验组OD值－空白组OD值）/（正常组OD值－空白组OD值）×100%。

2.2 熊果酸对IL-6刺激后231细胞迁移影响的检测

采用划痕实验检测熊果酸对231细胞迁移能力的影响。消化对数生长期的231细胞，将细胞悬液调整至5×10^5个/mL，取1 mL种于6孔板中，实验分为对照组、

模型组（IL-6 50 ng/mL[13]）、给药组（IL-6 50 ng/mL+熊果酸20 μmol/L，熊果酸给药浓度参考“2.1”项下结果设置），每组设置3个复孔。对照组用完全培养基培养24 h，给药组与模型组用相应浓度的IL-6刺激24 h，之后给药组用含相应浓度药物的完全培养基培养48 h。用200 μL枪头在6孔板内垂直划“一”字后，用D-hanks液清洗漂落的细胞。3组细胞分别于给药组给药后0 h与12 h在同一位置拍照记录，采用Image J软件分析划痕面积并计算细胞迁移率，细胞迁移率（%）=（0 h划痕面积－12 h划痕面积）/0 h划痕面积×100%。

2.3 熊果酸对IL-6刺激后231细胞侵袭影响的检测

采用Transwell实验检测熊果酸对231细胞侵袭能力的影响。提前将基质胶于4 ℃解冻，枪头预冷，基质胶与无血清培养基以1∶8混合均匀后取100 μL加入小室，于孵育箱中放置4 h。将细胞悬液用无血清培养基调整至5×10^5个/mL，分别取100 μL细胞悬液加入小室内，小室外加入500 μL血清浓度为15%的培养基，细胞分组及给药参考“2.2”项下，每组设置3个复孔。给药组给药后各组细胞于37 ℃继续孵育48 h，采用4%多聚甲醛固定15 min，1%结晶紫染色15 min，磷酸盐缓冲液清洗小室，用棉签拭去小室内的细胞，充分晾干后在显微镜下随机选择5个视野，采用Image J软件分析穿膜细胞数量并计算细胞侵袭率，细胞侵袭率（%）=模型组或给药组穿膜细胞数/对照组穿膜细胞数×100%。

2.4 熊果酸对IL-6刺激后231细胞中EMT相关标志物mRNA表达影响的检测

同“2.2”项下方法进行细胞分组（每组设置3个复孔）及干预，于给药组给药48 h后收集各组细胞，采用TRIZOL-氯仿法提取RNA，采用q-PCR法检测细胞中EMT相关标志物E-cad、MMP2、MMP9、Vim、CD44、ALDH1A1 mRNA的表达水平。PCR扩增程序（反应体系为20 μL）为：95 ℃预变性2 min；95 ℃变性10 s，62 ℃退火30 s，72 ℃延伸15 s，共40个循环。以GAPDH为内参，以对照组为参照，计算$2^{-\Delta\Delta Ct}$值确定各目的基因mRNA的相对表达量。各引物序列见表1。

表1 基因引物序列

基因名称	引物序列（5′-3′）	引物长度/bp	产物长度/bp
GAPDH	正向引物：TCTGACTTCAACAGCGACACC	21	119
	反向引物：CTGTTGCTGTAGCCAAATTCGTT	23	
CD44	正向引物：CAGCAACCCTACTGATGATGACG	23	110
	反向引物：GCCAAGAGGGATGCCAAGATGA	23	
MMP2	正向引物：TACAGGATCATTGGCTACACACC	23	156
	反向引物：GGTCACATCGCTCCAGACT	19	
Vim	正向引物：CGGGAGAAATTGCAGGAGGA	20	340
	反向引物：AAGGTCAAGACGTGCCAGAG	20	
E-cad	正向引物：GACAACAAGCCCGAATT	17	156
	反向引物：GGAAACTCTCTCGGTCCA	18	
ALDH1A1	正向引物：AGGGCCAGTGTTGTATAGCC	20	92
	反向引物：TCCACATTCCAGTTTGGCCC	20	
MMP9	正向引物：GGGACGCAGACATCGTCATC	20	117
	反向引物：TCGTCATCGTCGAAATGGGC	20	

2.5 熊果酸对IL-6刺激后231细胞中JAK2/STAT3信号通路与EMT相关标志物的蛋白表达影响的检测

同“2.2”项下方法进行细胞分组（每组设置3个复孔）及干预，于给药组给药48 h后收集各组细胞，采用Western blot法检测JAK2/STAT3通路中JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3 4种蛋白及EMT相关标志物E-cad、MMP2、MMP9、Vim、CD44、ALDH1A1蛋白的表达水平。在细胞中加入RIPA裂解液（含1%蛋白酶抑制剂的蛋白裂解液）后冰上裂解30 min，离心后保留上清液，采用BCA法进行蛋白浓度测定，将蛋白浓度调整到1 μg/μL后进行高温变性。取10 μL变性蛋白样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，起始浓缩胶电压调至80 V，待样本基本平齐后电压转至120 V，溴酚蓝抵达凝胶底部时停止电泳。将胶上蛋白转移到PVDF膜，5%牛血清白蛋白封闭2 h，加入相对应的一抗，稀释比例均为1∶1 000，4 ℃孵育过夜；次日用TBST洗涤后加入山羊抗兔/鼠二抗（稀释比例均为1∶5 000）室温孵育2 h，TBST洗涤3次后于化学发光成像系统上成像显影。用Image J软件分析图像灰度值，以目的蛋白与内参蛋白（GAPDH）的灰度值比值作为前者的相对表达量，以p-JAK2与JAK2灰度值的比值、p-STAT3与STAT3灰度值的比值反映JAK2、STAT3的磷酸化水平。

2.6 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行统计分析，计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组资料比较采用单因素方差分析，两两间比较采用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 熊果酸对231细胞增殖率的影响

随着药物浓度的升高，231细胞增殖率均逐渐降低，呈现剂量依赖趋势。熊果酸在20～40 μmol/L时，231细胞的增殖率在85%以上，对细胞的增殖能力无明显的抑制作用，结果见图1。本实验选取低浓度20 μmol/L作为后续实验中熊果酸的给药浓度。

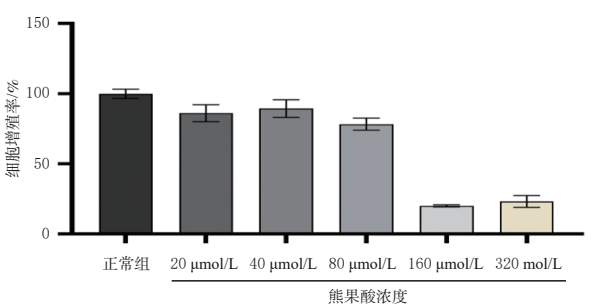
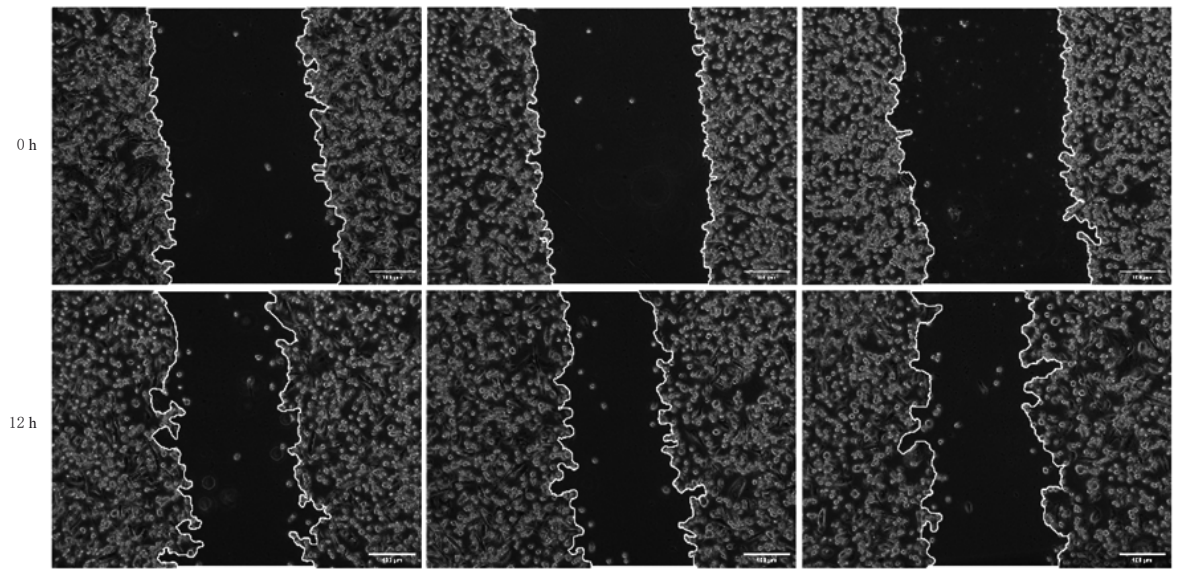


图1 不同浓度熊果酸对231细胞增殖率的影响（$n=6$）

3.2 熊果酸对IL-6刺激后231细胞迁移的影响

与对照组细胞迁移率[（100.00±8.70）%]比较，模型组细胞迁移率[（142.40±18.12）%]显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，给药组细胞迁移率[（104.98±14.06）%]显著降低（$P<0.05$），结果见图2。

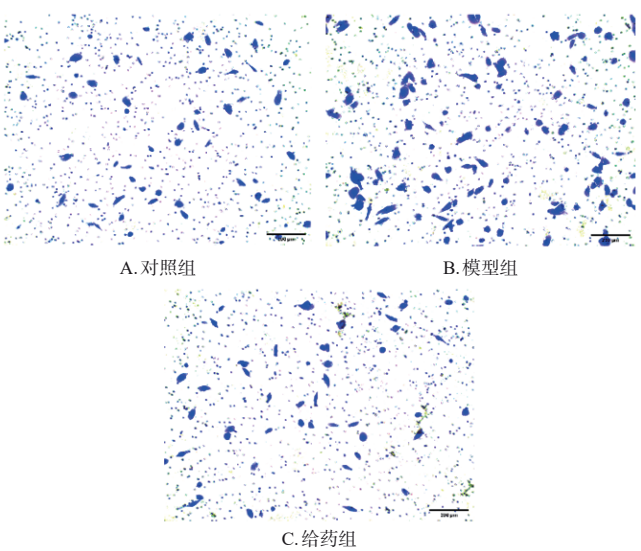


A.对照组　　B.模型组　　C.给药组

图2　熊果酸对231细胞迁移能力影响的显微图（×100）

3.3　熊果酸对IL-6刺激后231细胞侵袭的影响

与对照组细胞侵袭率[(100.00±5.25)%]比较，模型组细胞侵袭率[(157.22±24.23)%]显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，给药组细胞侵袭率[(86.96±11.95)%]显著降低（$P<0.05$），结果见图3。



A.对照组　　B.模型组

C.给药组

图3　熊果酸对231细胞侵袭能力影响的显微图（×100）

3.4　熊果酸对IL-6刺激后231细胞中EMT标志物mRNA表达的影响

与对照组比较，模型组细胞中MMP2、Vim、CD44 mRNA的相对表达量均显著升高，E-cad mRNA的相对表达量显著降低（$P<0.05$）；与模型组比较，给药组细胞中MMP9、MMP2、Vim、ALDH1A1、CD44 mRNA的相对表达量均显著降低，E-cad mRNA的相对表达量显著升高（$P<0.05$）。结果见表2。

表2　熊果酸对IL-6刺激后231细胞中EMT标志物mRNA表达影响的检测结果（$n=3$）

组别	E-cad	MMP9	MMP2	Vim	ALDH1A1	CD44
对照组	1.001±0.055	1.002±0.073	1.008±0.150	1.001±0.048	1.020±0.230	1.019±0.247
模型组	0.518±0.090[a]	1.242±0.239	4.314±1.070[a]	1.283±0.123[a]	1.045±0.388	1.365±0.128[a]
给药组	0.682±0.082[b]	0.108±0.005[b]	1.048±0.506[b]	0.965±0.093[b]	0.458±0.202[b]	1.021±0.017[b]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

3.5　熊果酸对IL-6刺激后231细胞中EMT标志物蛋白表达的影响

与对照组比较，模型组细胞中MMP9、MMP2、Vim、ALDH1A1、CD44蛋白的相对表达量均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，给药组细胞中MMP9、Vim、ALDH1A1蛋白的相对表达量均显著降低（$P<0.05$）。结果见表3、图4。

表3　熊果酸对IL-6刺激后231细胞中EMT标志物蛋白表达影响的检测结果（$n=3$）

组别	E-cad	MMP9	MMP2	Vim	ALDH1A1	CD44
对照组	1.000±0.170	1.000±0.108	1.000±0.046	1.000±0.041	1.000±0.021	1.000±0.008
模型组	0.821±0.006	1.407±0.096[a]	1.254±0.022[a]	1.397±0.055[a]	1.505±0.067[a]	1.578±0.131[a]
给药组	1.095±0.007	1.071±0.100[b]	1.092±0.061	1.076±0.069[b]	1.102±0.129[b]	1.288±0.146

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

3.6　熊果酸对IL-6刺激后231细胞JAK2/STAT3通路相关蛋白表达的影响

与对照组比较，模型组细胞中p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，给药组细胞中p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值均有不同程度的下降趋势，但差异无统计学意义（$P>0.05$）。结果见表4、图5。

4　讨论

IL-6/JAK2/STAT3通路是调控EMT的重要途径。细胞因子IL-6可由肿瘤微环境中的间质细胞及肿瘤细

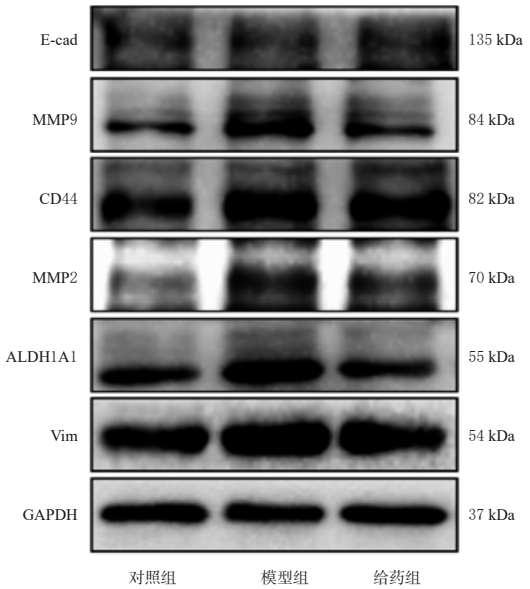


图4　熊果酸对IL-6刺激后231细胞中EMT标志物蛋白表达影响的电泳图

表4　熊果酸对IL-6刺激后231细胞JAK2/STAT3通路相关蛋白表达影响的检测结果（$n=3$）

组别	p-JAK2/JAK2	p-STAT3/STAT3
对照组	1.000±0.027	1.000±0.049
模型组	1.206±0.063[a]	1.650±0.217[a]
给药组	1.061±0.067	1.216±0.085

a：与对照组比较，$P<0.05$

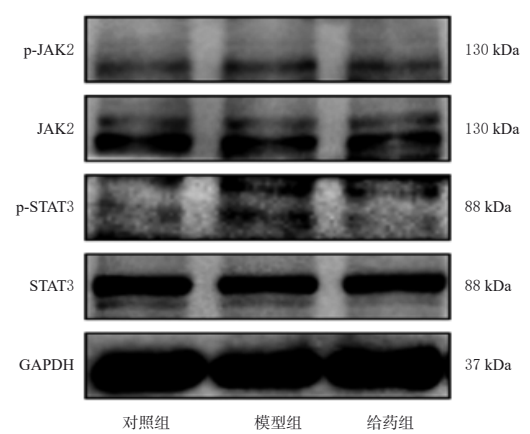


图5　熊果酸对JAK2/STAT3通路相关蛋白表达影响的电泳图

胞本身分泌。研究表明，乳腺癌患者血清与组织中存在高水平的IL-6，与患者的生存、预后等呈负相关[14]。IL-6与胞膜表面IL-6R/gp130复合物结合，磷酸化下游JAK2与STAT3后促进侵袭、迁移相关蛋白的转录与翻译，进而诱导肿瘤侵袭、迁移及干性转变等恶性行为[15]。Jing等[16]研究表明，Gprc5a-ko小鼠中高水平的IL-6可重新编程肿瘤基因表达从而促进乳腺癌的肺转移，而敲除*IL-6*基因后几乎消除了肿瘤的肺转移。可见炎症因子IL-6与肿瘤侵袭、迁移等恶性行为是相互促进、相互依存的。本次实验结果也表明，IL-6能够诱导乳腺癌231细胞EMT进而诱发侵袭、迁移。

乳腺癌发生EMT时癌细胞失去极性与黏附性，并且获得了间质特性。期间MMP2、MMP9、Vim等间质标志分子表达增加，而上皮标志分子E-cad表达降低[17]。CD44与ALDH1A1常作为干性转变的标志分子，干性转变与EMT的发生密切相关，处于EMT过程中的细胞也具有干细胞特性，因此CD44与ALDH1A1也可作为监测EMT发生的标志分子[18]。MMP2、MMP9属于基质金属蛋白酶，能够水解细胞外基质；而Vim表达的增加赋予细胞更强的变形能力；E-cad表达降低使得细胞间的紧密连接消失；上述细胞膜表面分子标志的表达改变易于肿瘤细胞脱离原发病灶并向间质、血管及淋巴结转移，从而产生肿瘤的远处转移及播散[19]。

本次研究结果显示，以IL-6 50 ng/mL作为刺激浓度[13]，诱发乳腺癌231细胞EMT过程，增强了细胞的侵袭与迁移能力，诱导了乳腺癌细胞的恶性转变，间质标志分子MMP9、MMP2、Vim、ALDH1A1与CD44等基因或蛋白表达增加，上皮标志分子E-cad基因与蛋白表达降低。而熊果酸具有广泛的抗肿瘤效应，此次研究也发现熊果酸处理后能够抑制JAK2/STAT3通路中p-JAK2、p-STAT3的表达，阻断上述间质标志物的转录与翻译，逆转EMT过程，发挥抗肿瘤侵袭与迁移效应，这种效应与其抑制JAK2/STAT3信号通路的激活密不可分。

综上所述，熊果酸能够有效抑制IL-6诱导的乳腺癌细胞侵袭与迁移，上述作用可能与熊果酸能够抑制JAK2/STAT3信号通路相关。

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.

[2] ELISHA Y, SAGI Y, KLEIN G, et al. Cooperativity between stromal cytokines drives the invasive migration of human breast cancer cells[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2019, 374(1779): 20180231.

[3] FENG X, XUE F, HE G H, et al. Banxia xiexin decoction affects drug sensitivity in gastric cancer cells by regulating MGMT expression via IL-6/JAK/STAT3-mediated PD-L1 activity[J]. Int J Mol Med, 2021, 48(2): 165.

[4] IQBAL J, ABBASI B A, AHMAD R, et al. Ursolic acid a promising candidate in the therapeutics of breast cancer: current status and future implications[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 108: 752-756.

[5] YANG K Y, CHEN Y, ZHOU J Q, et al. Ursolic acid promotes apoptosis and mediates transcriptional suppression of *CT45A2* gene expression in non-small-cell lung carcinoma harbouring EGFR T790M mutations[J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(24): 4609-4624.

[6] KIM S H, JIN H, MENG R Y, et al. Activating hippo pathway via Rassf1 by ursolic acid suppresses the tumorigenesis of gastric cancer[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(19): 4709.

[7] ZHAO R R, FANG Y F, CHEN Z X. Self-assembled

amphiphile-based nanoparticles for the inhibition of hepatocellular carcinoma metastasis via ICAM-1 mediated cell adhesion[J]. Acta Biomater, 2020, 111: 373-385.
[8] 李龙龙, 刘琪, 张光强, 等. 熊果酸对乳腺癌MCF-7细胞生长抑制作用机制探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(9): 692-697.
[9] ZHANG X, LI T, GONG E S, et al. Antiproliferative activity of ursolic acid in MDA-MB-231 human breast cancer cells through Nrf2 pathway regulation[J]. J Agric Food Chem, 2020, 68(28): 7404-7415.
[10] JIANG X, LI T, LIU R H. 2α-hydroxyursolic acid inhibited cell proliferation and induced apoptosis in MDA-MB-231 human breast cancer cells through the p38/MAPK signal transduction pathway[J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(8): 1806-1816.
[11] ZHANG Y B, MA X R, LI H Y, et al. Identifying the effect of ursolic acid against triple-negative breast cancer: coupling network pharmacology with experiments verification[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 685773.
[12] XIANG F F, FAN Y, NI Z H, et al. Ursolic acid reverses the chemoresistance of breast cancer cells to paclitaxel by targeting MiRNA-149-5p/MyD88[J]. Front Oncol, 2019, 9: 501.
[13] 吴大平, 吴焕良, 郑文宏, 等. IL-6调控miR-204及Notch1促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 现代免疫学, 2021, 41(5): 380-385, 406.
[14] MILOVANOVIĆ J, TODOROVIĆ-RAKOVIĆ N, RADULOVIC M. Interleukin-6 and interleukin-8 serum levels in prognosis of hormone-dependent breast cancer [J]. Cytokine, 2019, 118: 93-98.
[15] YOU Y H, TIAN Z W, DU Z, et al. M1-like tumor-associated macrophages cascade a mesenchymal/stem-like phenotype of oral squamous cell carcinoma via the IL6/STAT3/THBS1 feedback loop[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 10.
[16] JING B, WANG T, SUN B B, et al. IL6/STAT3 signaling orchestrates premetastatic niche formation and immunosuppressive traits in lung[J]. Cancer Res, 2020, 80(4): 784-797.
[17] HUANG Y H, HONG W Q, WEI X W. The molecular mechanisms and therapeutic strategies of EMT in tumor progression and metastasis[J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 129.
[18] BRITT K L, CUZICK J, PHILLIPS K A. Key steps for effective breast cancer prevention[J]. Nat Rev Cancer, 2020, 20(8): 417-436.
[19] PARK M, KIM D, KO S, et al. Breast cancer metastasis: mechanisms and therapeutic implications[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(12): 6806.

（收稿日期：2022-11-10　修回日期：2023-02-17）
（编辑：曾海蓉）

（上接第949页）

参考文献

[1] SANTOS J, HUBERT T, MILTHORPE B K. Valproic acid promotes early neural differentiation in adult mesenchymal stem cells through protein signalling pathways[J]. Cells, 2020, 9(3): 619.
[2] STEINBERG G K, KONDZIOLKA D, WECHSLER L R, et al. Clinical outcomes of transplanted modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells in stroke: a phase 1/2a study[J]. Stroke, 2016, 47(7): 1817-1824.
[3] 张晓璇, 马征, 于宁, 等. 丁苯酞对缺血性脑卒中大鼠海马神经元凋亡的抑制作用及其对p38 MAPK信号通路的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2019, 45(5): 1086-1091, 1198.
[4] WANG S, HUANG L, ZHANG Y, et al. Protective effects of L-3-n-butylphthalide against H_2O_2-induced injury in neural stem cells by activation of PI3K/Akt and Mash1 pathway[J]. Neuroscience, 2018, 393: 164-174.
[5] ZHANG P, GUO Z F, XU Y M, et al. N-butylphthalide (NBP) ameliorated cerebral ischemia reperfusion -induced brain injury via HGF-regulated TLR4/NF-κB signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83: 658-666.
[6] 赵二义, 贾延劼, 王带媚, 等. NF-κB信号通路在法舒地尔诱导大鼠骨髓间充质干细胞向神经元分化中的作用[J]. 中华神经医学杂志, 2015, 14(9): 899-904.
[7] 石进峰, 张博爱, 贾延劼, 等. 麝香提取物对大鼠皮层神经细胞炎性损伤的保护作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(6): 625-629.
[8] CHAMORRO Á, DIRNAGL U, URRA X, et al. Neuroprotection in acute stroke: targeting excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, and inflammation[J]. Lancet Neurol, 2016, 15(8): 869-881.
[9] CHEN J Y, LIN X, YAO C J, et al. Transplantation of roxadustat-preconditioned bone marrow stromal cells improves neurological function recovery through enhancing grafted cell survival in ischemic stroke rats[J]. CNS Neurosci Ther, 2022, 28(10): 1519-1531.
[10] HU J N, CHEN L F, HUANG X J, et al. Calpain inhibitor MDL28170 improves the transplantation-mediated therapeutic effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells following traumatic brain injury[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 96.
[11] YANG L, ZHOU R Y, TONG Y, et al. Neuroprotection by dihydrotestosterone in LPS-induced neuroinflammation [J]. Neurobiol Dis, 2020, 140: 104814.
[12] KARIN M, GRETEN F R. NF-κB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression[J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5(Suppl 1): 749-759.

（收稿日期：2022-10-13　修回日期：2023-03-26）
（编辑：邹丽娟）