



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2025.04.11

文章编号: 2095-1264(2025)04-0510-07

灯盏花素对人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖及放疗敏感性的影响*

韦 辉, 王天珩, 高世奇

(邯郸市第一医院, 河北 邯郸, 056002)

摘要: **目的** 探讨灯盏花素对人非小细胞肺癌(NSCLC)A549 细胞增殖及放疗敏感性的影响。**方法** 取对数生长期的 A549 细胞,经系列浓度(0、2、4、8、16、32 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)灯盏花素处理 48 h 后,采用 MTT 法检测细胞增殖抑制率,计算半数抑制浓度(IC_{50}),并将其作为后续实验的灯盏花素浓度。分别以系列放射剂量(0、1、2、4、6、8 Gy)和灯盏花素($14.75 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)联合系列放射剂量(0、1、2、4、6、8 Gy)处理 A549 细胞,计算平均致死剂量(D_0)和放射增敏比(SER)。设置空白组、灯盏花素组、放疗组及灯盏花素联合放疗组,采用 MTT 法检测细胞增殖抑制率,流式细胞术检测细胞凋亡,GFP-LC3 质粒转染法检测细胞自噬,Western blotting 法检测凋亡及自噬相关蛋白的表达。**结果** 灯盏花素对 A549 细胞的 IC_{50} 为 $(14.75 \pm 1.82) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。放疗组和灯盏花素联合放疗组的 D_0 分别为 $(2.19 \pm 0.15) \text{Gy}$ 和 $(1.64 \pm 0.10) \text{Gy}$,SER 为 1.34。灯盏花素、放疗及灯盏花素联合放疗均能显著提高 A549 细胞的增殖抑制率、凋亡率、自噬体数目,以及 Bax、Cleaved Caspase-3、Beclin1、LC3-II 蛋白相对表达量和 Bax/Bcl-2、Cleaved Caspase-3/Caspase-3、LC3-II/LC3-I 的比值,同时显著降低 Bcl-2 的表达量($P < 0.05$);灯盏花素联合放疗组的上述作用显著强于灯盏花素组和放疗组($P < 0.05$)。**结论** 灯盏花素可通过调控相关蛋白表达促进细胞凋亡与自噬,从而抑制 A549 细胞增殖并提高其放疗敏感性,为 NSCLC 的治疗提供了新的思路。

关键词: 非小细胞肺癌;灯盏花素;增殖;放疗;凋亡;自噬

中图分类号: R285; R734.2 **文献标识码:** A

Effects of breviscapine on proliferation and radiotherapy sensitivity of human non-small cell lung cancer A549 cells*

WEI Hui, WANG Tianheng, GAO Shiqi

(Handan First Hospital, Handan, 056002, Hebei, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of breviscapine on the proliferation and radiosensitivity of human non-small cell lung cancer (NSCLC) A549 cells. **Methods** A549 cells in the logarithmic growth phase were treated with serial concentrations (0, 2, 4, 8, 16, 32 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) of breviscapine for 48 h. The cell proliferation inhibition rate was measured using the MTT assay, and the half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) was calculated and used as the breviscapine concentration in subsequent experiments. A549 cells were treated with serial radiation doses (0, 1, 2, 4, 6, 8 Gy) alone or in combination with breviscapine ($14.75 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), and the mean lethal dose (D_0) and sensitization enhancement ratio (SER) were calculated. The cells were divided into four groups: control, breviscapine alone, radiotherapy alone, and breviscapine combined with radiotherapy. The MTT assay was used to detect cell proliferation inhibition, flow cytometry to assess apoptosis, GFP-LC3 plasmid transfection to observe autophagy, and Western blotting to measure the expression of apoptosis- and autophagy-related proteins. **Results** The IC_{50} of breviscapine for A549 cells was $(14.75 \pm 1.82) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. The D_0 values for the radiotherapy alone group and the combination group were $(2.19 \pm 0.15) \text{Gy}$ and $(1.64 \pm 0.10) \text{Gy}$, respectively, with an

*基金项目:河北省医学科学研究课题(20220506)。

作者简介:韦辉,女,硕士,副主任中药师,研究方向为药理学与临床药学。

SER of 1.34. The breviscapine alone, radiotherapy alone, and combination of breviscapine with radiotherapy significantly increased the proliferation inhibition rate, apoptosis rate, number of autophagosomes, relative expression levels of Bax, Cleaved Caspase-3, Beclin1, and LC3- II proteins, as well as the ratios of Bax/Bcl-2, Cleaved Caspase-3/Caspase-3, and LC3- II/LC3- I, while significantly decreasing Bcl-2 expression ($P<0.05$). The effects in the combination group were significantly stronger than those in the breviscapine alone or radiotherapy alone groups ($P<0.05$). **Conclusion** Breviscapine can inhibit the proliferation of A549 cells and enhance their radiosensitivity by regulating the expression of related proteins to promote apoptosis and autophagy, providing new insights for the treatment of NSCLC.

Keywords: Non-small cell lung cancer; Breviscapine; Proliferation; Radiotherapy; Apoptosis; Autophagy

0 前言

肺癌是我国发病率与死亡率均居首位的恶性肿瘤。相关数据显示,2020年我国新发肺癌病例达82万例,死亡病例为71万例,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占比约85%^[1-2]。在临床诊疗中,多数NSCLC患者就诊时病情已发展至中晚期,且常出现淋巴结、脑、骨骼等部位的转移,丧失手术治疗的机会。放疗作为中晚期NSCLC的主要治疗手段之一,其疗效却因癌细胞对放疗敏感性较低及治疗过程中继发性耐受等问题而受到影响^[3]。基于此,如何提高NSCLC对放疗的敏感性已成为当前该领域的研究重点。

灯盏花素是从中药灯盏花中提取的黄酮类化合物,具有广泛的抗肿瘤活性^[4-6]。细胞凋亡障碍与自噬受阻是恶性肿瘤发生发展的关键病理机制。本课题组前期研究发现,灯盏花素可促进人NSCLC A549细胞凋亡,并能增强其对顺铂的化疗敏感性^[7]。另有文献报道,灯盏花素可显著提高A549细胞对紫杉醇的化疗敏感性^[8],同时还能促进糖氧剥夺状态下心肌细胞的自噬^[9]。已有研究证实,诱导细胞凋亡与自噬是提高癌细胞放疗敏感性的有效途径^[10-11],但目前尚无文献报道灯盏花素对NSCLC细胞放疗敏感性的影响。基于此,本研究选取A549细胞系作为受试细胞,旨在探讨灯盏花素对NSCLC细胞增殖及放疗敏感性的影响,并探究其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系、试剂与仪器

人NSCLC A549细胞系(目录号:SCSP-503,中科院细胞库);灯盏花素(货号:WKQ-0004798,纯度 $\geq 98\%$,四川维克奇公司);RPMI 1640培养基(货号:MA0553,大连美仑公司);Annexin V-FITC/PI试剂盒(货号:C1062L,上海碧云天公司);GFP-LC3质粒(货号:VT008161)、细胞转染试剂盒(货号:L3140)

均购自北京索莱宝公司;RIPA裂解液(货号:R32714)、超敏化学发光液(enhanced chemiluminescence, ECL)(货号:R32942)、结晶紫(货号:B26890)均购自上海源叶公司;MTT试剂盒(货号:G4101,武汉赛维尔公司);B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)抗体(货号:bs-0032R)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)抗体(货号:bs-0127R)、Beclin1抗体(货号:bs-24743R)、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(货号:bs-0061R)和IgG二抗(货号:bs-0295G)均购自北京博奥森公司;半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)抗体(货号:AF6311)、Cleaved Caspase-3抗体(货号:AF7022)、微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein light chain 3, LC3)抗体(货号:AF5402)均购自美国Affinity公司。6MeV型X线直线加速器(德国西门子公司);ELX-800型酶标仪(美国BioTek公司);LX型流式细胞仪(美国Beckman公司);DM-1000型荧光显微镜(德国Leica公司);Mini Tetra型蛋白电泳转膜系统(美国Bio-Rad公司)。

1.2 细胞培养

A549细胞经常规复苏后,置于37℃、饱和湿度、5% CO₂的细胞培养箱中,采用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基进行培养。待细胞融合度达80%时,按1:3的比例传代,选取第4代对数生长期的细胞用于后续实验。

1.3 计算灯盏花素对A549细胞的半数抑制浓度

将A549细胞以 5×10^3 个/孔的密度接种于96孔板,分别加入含0、2、4、8、16、32 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 灯盏花素的RPMI 1640培养基,培养48 h后弃去含药培养基。每孔加入100 μL 浓度为5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的MTT溶液,孵育4 h;随后每孔加入100 μL DMSO终止反应,使用酶标仪于570 nm波长处检测吸光度(A)。通过计算细胞增殖抑制率确定灯盏花素对A549细胞的半数抑制浓度(median inhibitory concentration, IC₅₀)。增殖抑制率 $= (1 - \frac{A_{\text{药物组}}}{A_{\text{空白组}}}) \times 100\%$ 。

1.4 平板克隆实验检测细胞存活分数,并计算平均致死剂量、放射增敏比

将 A549 细胞以 200 个/孔的密度接种于 6 孔板,分为以下两组进行处理:(1)常规培养基培养 48 h 后,分别采用 0、1、2、4、6、8 Gy 的放射剂量(剂量率均为 $1 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$)干预细胞,随后更换为常规培养基继续培养 12 d;(2)含终浓度 IC_{50} [经前期实验计算 $\text{IC}_{50}=(14.75 \pm 1.82) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]灯盏花素的培养基培养 48 h 后,分别采用 0、1、2、4、6、8 Gy 的放射剂量(剂量率均为 $1 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$)干预细胞,随后更换为常规培养基继续培养 12 d。培养结束后,弃去培养基,每孔加入 1 mL 浓度为 4% 的多聚甲醛溶液固定,再加入 1 mL 浓度为 0.1% 的结晶紫溶液染色,静置 1 h。用显微镜计数每个孔中细胞数不少于 50 个的克隆形成数目。相关计算公式如下:克隆形成率(plating efficiency, PE)=(克隆形成数目/接种细胞数)×100%;存活分数(survival fraction, SF)=(PE_{处理组}/PE_{对照组})×100%。根据单击多靶模型拟合细胞存活曲线,计算相关参数:平均致死剂量(mean lethal dose, D_0)、外推值(extrapolation number, N)、准阈剂量(quasi-threshold dose, D_q)及放射增敏比(sensitizing enhancement ratio, SER),其中 SER=放疗组 D_0 /(灯盏花素+放疗组) D_0 。

1.5 MTT 法检测细胞增殖抑制率

将 A549 细胞以 5×10^3 个/孔的密度接种于 96 孔板,设置四组进行处理。空白组:采用常规培养基培养 48 h;灯盏花素组:采用含 $14.75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 灯盏花素的培养基培养 48 h;放疗组:先以常规培养基培养 48 h,再用 1.82 Gy[经前期实验确定,使 A549 细胞达到 50% SF 的放射剂量为 $(1.82 \pm 0.13) \text{ Gy}$]放射剂量(剂量率为 $1 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$)干预;灯盏花素联合放疗组:先以含 $14.75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 灯盏花素的培养基培养 48 h,再用 1.82 Gy 放射剂量(剂量率为 $1 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$)干预。各组处理后,按“1.3”中方法检测细胞增殖抑制率。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡

将 A549 细胞以 5×10^3 个/孔的密度接种于 6 孔板,按照“1.5”中方法设置分组并进行干预处理。处理结束后,用胰酶消化细胞并分离,参照 Annexin V-FITC/PI 试剂盒说明书操作:以 1×结合缓冲液重悬细胞,每孔加入 5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL PI,避光染色 15 min 后,采用流式细胞仪检测细胞凋亡状况。

1.7 GFP-LC3 质粒转染法检测细胞自噬

将 A549 细胞以 5×10^3 个/孔的密度接种于 6 孔板,按照“1.5”设置分组并进行干预处理。处理后更换为常规培养基,每孔加入含 4 μg GFP-LC3、10 μL 转染试剂及 500 μL 培养基的混合液,避光孵育 6 h;随后更换为常规培养基,继续避光孵育 48 h。采用荧光显微镜计数细胞内自噬体数目(呈绿色荧光的 GFP-LC3 可与自噬小体膜融合,故绿色荧光亮点数目即为自噬体数目)。

1.8 Western blotting 法检测蛋白表达

将 A549 细胞以 5×10^3 个/孔的密度接种于 6 孔板,按照“1.5”设置分组并进行干预处理。处理结束后,用胰酶消化细胞并分离,加入 RIPA 裂解液,冰上静置 30 min;于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 、12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下离心 25 min,提取总蛋白。经 SDS-PAGE 电泳分离蛋白、转印至 PVDF 膜、封闭处理后,加入目标蛋白抗体[按体积比 1:500 稀释的 Cleaved Caspase-3、Beclin1、LC3, 1:1 000 稀释的 Bcl-2、Bax、Caspase-3 及 1:1 500 稀释的 β -actin], $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 12 h;随后加入二抗稀释液[按体积比 1:3 000 稀释的 IgG],室温孵育 1 h;最后加入 ECL 显影,以 β -actin 为内参,对目标蛋白表达水平进行半定量分析。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。计量资料以“均数±标准差”($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD- t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 灯盏花素对 A549 细胞的 IC_{50}

MTT 实验结果显示,灯盏花素对 A549 细胞的 IC_{50} 为 $(14.75 \pm 1.82) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。据此选择 $14.75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为后续实验的灯盏花素工作浓度(图 1)。

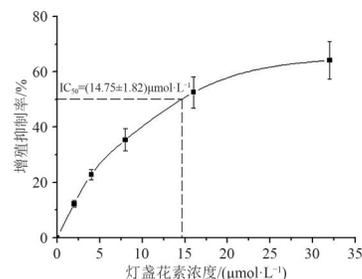


图 1 不同浓度灯盏花素对 A549 细胞增殖的影响($n=3$)
Fig. 1 Effects of different concentrations of breviscapine on the proliferation of A549 cells ($n=3$)

2.2 灯盏花素对 A549 细胞放疗敏感性的影响

平板克隆形成实验结果显示,随着放射剂量的增加,放疗组和灯盏花素联合放疗组的 A549 细胞 SF 均呈下降趋势。其中,放疗组 50% 细胞存活对应的放射剂量为 (1.82 ± 0.13) Gy, 因此选取 1.82 Gy 作为后续实验的放射剂量。实验检测结果表明,放疗组和灯盏花素联合放疗组的 D_0 分别为 (2.19 ± 0.15) Gy 和 (1.64 ± 0.10) Gy, D_q 分别为 (1.76 ± 0.12) Gy 和 (1.52 ± 0.11) Gy, SER 为 1.34。证实灯盏花素可显著增强 A549 细胞的放疗敏感性(图 2, 表 1)。

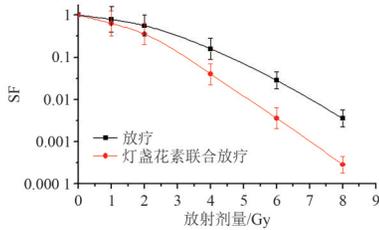


图 2 灯盏花素对 A549 细胞放疗敏感性的影响 ($n=3$)
 Fig. 2 Effects of breviscapine on radiotherapy sensitivity of A549 cells ($n=3$)

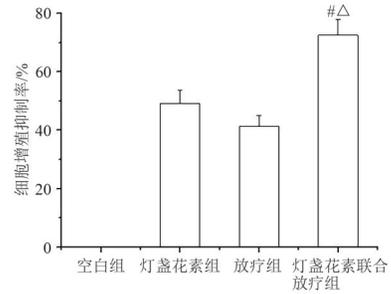
表 1 单击多靶模型参数 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab.1 Click multi-target model parameters ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	D_0 /Gy	D_q /Gy	N	SER
放疗	2.19 ± 0.15	1.76 ± 0.12	3.15 ± 0.22	
灯盏花素联合放疗	1.64 ± 0.10	1.25 ± 0.09	2.38 ± 0.18	1.34
<i>t</i>	5.284	6.125	4.692	
<i>P</i>	0.006	0.004	0.009	

2.3 灯盏花素联合放疗对 A549 细胞增殖抑制率的影响

MTT 实验结果显示,灯盏花素组、放疗组及灯盏花素联合放疗组的 A549 细胞增殖抑制率均显著高于空白组 ($P < 0.05$), 且灯盏花素联合放疗组的增殖抑制率显著高于灯盏花素组和放疗组 ($P < 0.05$) (图 3)。



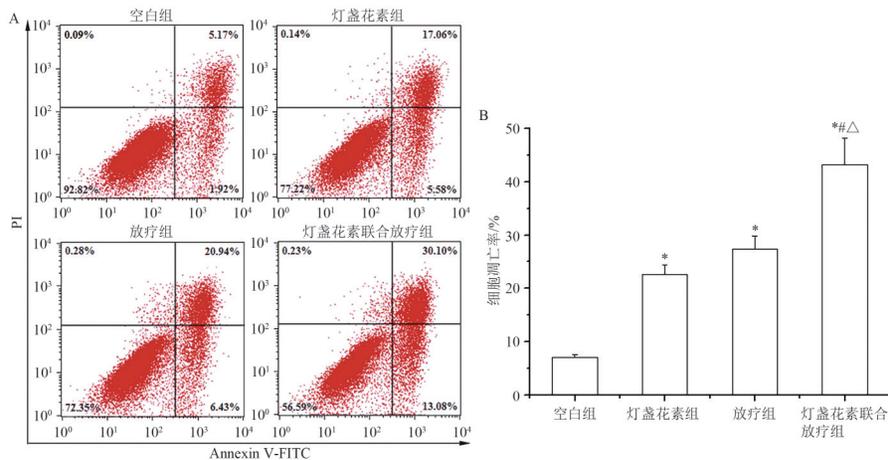
注:与灯盏花素组比较, $^{\#}P < 0.05$; 与放疗组比较, $^{\Delta}P < 0.05$ 。

Note: Compared with breviscapine group, $^{\#}P < 0.05$; compared with radiotherapy group, $^{\Delta}P < 0.05$.

图 3 灯盏花素联合放疗对 A549 细胞增殖抑制率的影响 ($n=3$)
 Fig. 3 The effects of breviscapine combined with radiotherapy on proliferation inhibition rate of A549 cells ($n=3$)

2.4 灯盏花素联合放疗对 A549 细胞凋亡的影响

流式细胞术检测结果显示,灯盏花素组、放疗组和灯盏花素联合放疗组的 A549 细胞凋亡率均显著高于空白组 ($P < 0.05$), 且灯盏花素联合放疗组的凋亡率显著高于灯盏花素组和放疗组 ($P < 0.05$) (图 4)。



注:(A)流式细胞术检测各组 A549 细胞凋亡状况;(B)各组 A549 细胞凋亡率。与空白组比较, $^*P < 0.05$; 与灯盏花素组比较, $^{\#}P < 0.05$; 与放疗组比较, $^{\Delta}P < 0.05$ 。

Note: (A) The apoptosis of A549 cells in each group was detected by flow cytometry; (B) The apoptosis rate of A549 cells in each group. Compared with blank group, $^*P < 0.05$; Compared with breviscapine group, $^{\#}P < 0.05$; Compared with radiotherapy group, $^{\Delta}P < 0.05$.

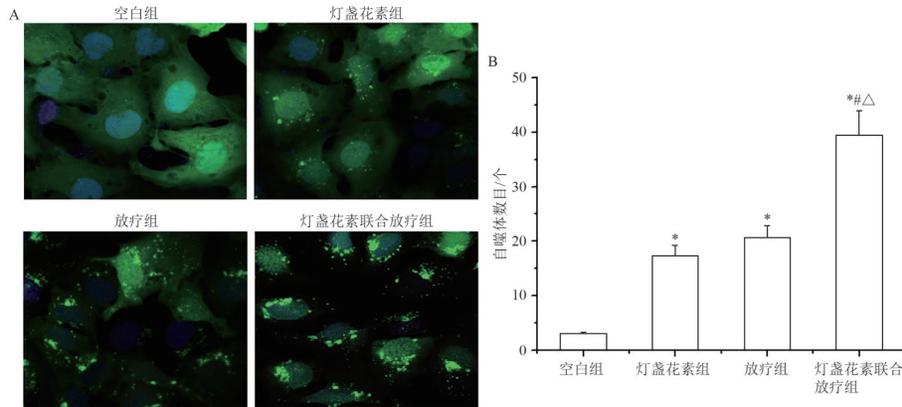
图 4 灯盏花素联合放疗对 A549 细胞凋亡的影响 ($n=3$)

Fig. 4 Effects of breviscapine combined with radiotherapy on apoptosis of A549 cells ($n=3$)

2.5 灯盏花素联合放疗对 A549 细胞自噬的影响

GFP-LC3 质粒转染实验结果显示,灯盏花素组、放疗组和灯盏花素联合放疗组的 A549 细胞中自

噬体数目均显著高于空白组($P<0.05$),且灯盏花素联合放疗组的 A549 细胞中自噬体数目显著高于灯盏花素组和放疗组($P<0.05$)(图 5)。



注:(A)GFP-LC3 质粒转染法检测各组 A549 细胞自噬;(B)各组 A549 细胞自噬体数目。与空白组比较,* $P<0.05$;与灯盏花素组比较,# $P<0.05$;与放疗组比较,△ $P<0.05$ 。

Note: (A) The autophagy of A549 cells in each group was detected by GFP-LC3 fluorescent plasmid transfection; (B) The number of autophagosomes of A549 cells in each group. Compared with blank group, * $P<0.05$; Compared with breviscapine group, # $P<0.05$; Compared with radiotherapy group, △ $P<0.05$.

图 5 灯盏花素联合放疗对 A549 细胞自噬的影响($n=3$)

Fig. 5 The effects of breviscapine combined with radiotherapy on autophagy of A549 cells ($n=3$)

2.6 灯盏花素联合放疗对 A549 细胞 Bcl-2、Bax、Caspase-3、Cleaved Caspase-3、Beclin1、LC3-I、LC3-II 蛋白表达的影响

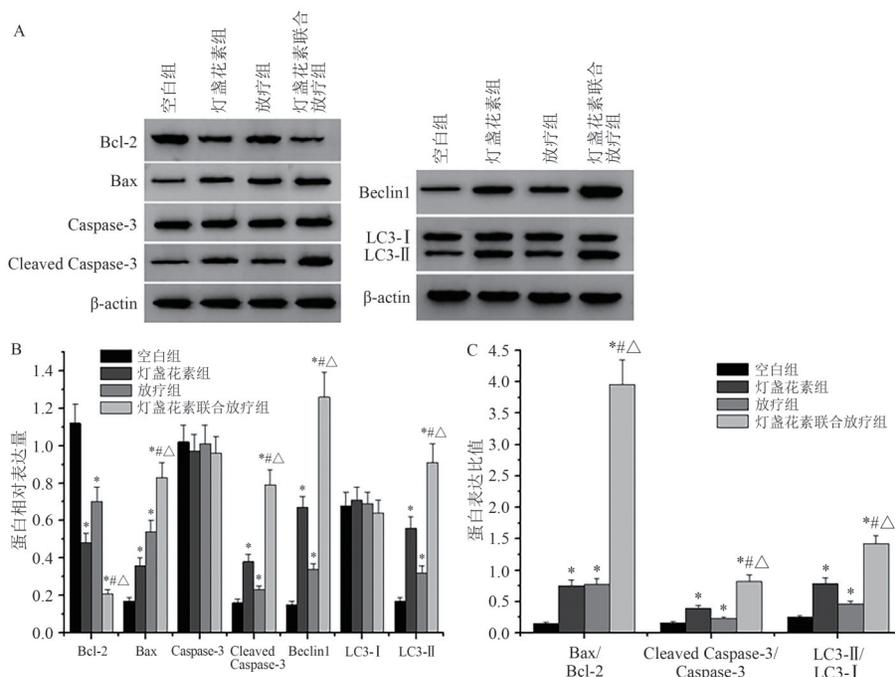
Western blotting 实验结果显示,灯盏花素组、放疗组和灯盏花素联合放疗组 A549 细胞中 Bax、Cleaved Caspase-3、Beclin1、LC3-II 蛋白相对表达量及 Bax/Bcl-2、Cleaved Caspase-3/Caspase-3、LC3-II/LC3-I 的比值显著高于空白组,而 Bcl-2 蛋白表达量显著低于空白组,差异均有统计学意义($P<0.05$);且灯盏花素联合放疗组 A549 细胞中 Bax、Cleaved Caspase-3、Beclin1、LC3-II 蛋白相对表达量及 Bax/Bcl-2、Cleaved Caspase-3/Caspase-3、LC3-II/LC3-I 的比值显著高于灯盏花素组和放疗组, Bcl-2 蛋白相对表达量显著低于灯盏花素组和放疗组,差异均有统计学意义($P<0.05$)(图 6)。

3 讨论

肺癌是严重威胁人类生命健康的恶性肿瘤,全球每年因肺癌死亡的病例约 180 万例,其中我国的死亡病例占比超过 1/3^[2]。放疗是中晚期肺癌治疗及早期肺癌手术前后辅助治疗的主要方案,然而多次放疗易导致肺癌细胞的放疗耐受性升高,这已成为影响肺癌患者预后的关键因素。肺癌的病理分型主要包括小细胞肺癌(约占 15%)和 NSCLC(约占

85%)两大类。灯盏花素是灯盏花的主要活性成分,现代药理学研究发现其具有较广谱的抗肿瘤作用^[4-6]。本实验结果显示,灯盏花素对人 NSCLC A549 细胞的增殖抑制作用呈剂量依赖性,IC₅₀为(14.75±1.82)μmol·L⁻¹;放疗组与灯盏花素联合放疗组的 D₀分别为(2.19±0.15)Gy 和(1.64±0.10)Gy, SER 为 1.34。这提示灯盏花素具有抑制 A549 细胞增殖并提高其放疗敏感性的作用。

细胞凋亡与自噬对维持细胞代谢平衡具有重要作用^[12],二者功能低下是 NSCLC 恶性进展的重要原因^[13]。Bcl-2 蛋白家族可通过影响线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)的开放度,参与细胞线粒体凋亡途径的调控,其中最具代表性的是 Bax 和 Bcl-2。当受到凋亡信号刺激时,Bax 和 Bcl-2 会从细胞质移位至线粒体外膜;Bax 可形成同源寡聚物,或与 Bcl-2 形成异源寡聚物。Bax 同源寡聚物能诱导 mPTP 开放度异常升高,导致细胞色素 C 流入细胞质,进而激活 Caspase-3,而 Cleaved Caspase-3 会破坏染色体与蛋白结构并抑制其修复,最终引发细胞凋亡;而 Bax 与 Bcl-2 形成的异源寡聚物则不会影响 mPTP 开放度,也不会促进细胞凋亡^[14-16]。Bax/Bcl-2 的表达比值可反映 Bax 同源寡聚物及 Bax 与 Bcl-2 异源寡聚物的形成情况,因此可作为观察细胞凋亡状况的指标^[17-18]。本研究



注：(A) 各组 A549 细胞 Bcl-2、Bax、Caspase-3、Cleaved Caspase-3、Beclin1、LC3- I、LC3- II 蛋白条带图；(B) 各组 A549 细胞 Bcl-2、Bax、Caspase-3、Cleaved Caspase-3、Beclin1、LC3- I、LC3- II 蛋白相对表达量；(C) 各组 A549 细胞 Bax/Bcl-2、Cleaved Caspase-3/Caspase-3、LC3- II/LC3- I 表达比值。与空白组比较，* $P < 0.05$ ；与灯盏花素组比较，# $P < 0.05$ ；与放疗组比较， $\Delta P < 0.05$ 。

Note: (A) The expression of Bcl-2, Bax, Caspase-3, Cleaved Caspase-3, Beclin1, LC3- I, LC3- II proteins in A549 cells of each group were detected by Western blotting; (B) The relative expression levels of Bcl-2, Bax, Caspase-3, Cleaved Caspase-3, Beclin1, LC3- I, LC3- II in A549 cells of each group; (C) The expression ratios of Bax/Bcl-2, Cleaved Caspase-3/Caspase-3, LC3- II/LC3- I in A549 cells of each group. Compared with blank group, * $P < 0.05$; Compared with breviscapine group, # $P < 0.05$; Compared with radiotherapy group, $\Delta P < 0.05$.

图 6 灯盏花素联合放疗对 A549 细胞 Bcl-2、Bax、Caspase-3、Cleaved Caspase-3、Beclin1、LC3- I、LC3- II 蛋白表达及 Bax/Bcl-2、Cleaved Caspase-3/Caspase-3、LC3- II/LC3- I 比值的影响 ($n=3$)

Fig. 6 Effects of breviscapine combined with radiotherapy on the expression of Bcl-2, Bax, Caspase-3, Cleaved Caspase-3, Beclin1, LC3- I, LC3- II proteins and the ratios of Bax/Bcl-2, Cleaved Caspase-3/Caspase-3, LC3- II/LC3- I in A549 cells of each group ($n=3$)

发现,灯盏花素联合放疗组 A549 细胞的凋亡率, Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白相对表达量及 Bax/Bcl-2、Cleaved Caspase-3/Caspase-3 的比值均显著高于灯盏花素组和放疗组。这表明灯盏花素提高 A549 细胞放疗敏感性的作用可能与其促进细胞凋亡有关。

自噬是真核细胞中由自噬溶酶体介导的一种程序性细胞死亡过程。Beclin1 是首个被发现的自噬基因,位于人类 17 号染色体 21 区域,其参与自噬体形成与成熟过程的调控,在自噬过程中发挥关键作用^[19-20]。LC3 是自噬的标志蛋白,当自噬发生时,LC3- I 会被酶解掉一段多肽,形成脂溶性的 LC3- II,LC3- II 转移至自噬体膜,促进自噬小体的形成,因此 LC3- II/LC3- I 比值可反映自噬状况^[21-22]。有文献^[23]报道,通过药物促进细胞自噬可有效抑制 NSCLC。本实验结果显示,灯盏花素联合放疗组 A549 细胞中的自噬体数目,Beclin1、LC3- II 蛋白相

对表达量及 LC3- II/LC3- I 比值均明显高于灯盏花素组和放疗组。这表明灯盏花素提高 A549 细胞放疗敏感性的作用可能与其促进细胞自噬有关。

综上所述,灯盏花素可通过调控相关蛋白的表达,促进细胞凋亡与自噬,进而抑制 A549 细胞增殖并提高其放疗敏感性。本研究结果为 NSCLC 的治疗提供了新的思路,但灯盏花素促进 A549 细胞凋亡与自噬的具体作用机制仍有待进一步研究。

参考文献

- [1] 邱海平, 谢晓平, 陈天庆. 1990—2019 年中国肺癌发病死亡趋势分析及年龄-时期-队列模型[J]. 中国癌症防治杂志, 2023, 15(5): 537-542. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5671.2023.05.11.
- [2] 支修益, 师建国, 田艳涛, 等. 《2022 年中国肺癌患者生存质量白皮书》要点解读[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2023, 30(8): 1083-1088. DOI: 10.7507/1007-4848.202305045.
- [3] CHEN X Z, YUAN M, ZHONG T, et al. LILRB2 inhibition enhances radiation sensitivity in non-small cell lung cancer

- by attenuating radiation-induced senescence [J]. *Cancer Lett*, 2024, 593: 216930. DOI:10.1016/j.canlet.2024.216930.
- [4] NIU P F, LIU F, LEI F M, et al. Breviscapine regulates the proliferation, migration, invasion, and apoptosis of colorectal cancer cells *via* the PI3K/AKT pathway [J]. *Sci Rep*, 2023, 13 (1): 9674. DOI:10.1038/s41598-023-33792-x.
- [5] FU W J, SONG J, LI H Y. Breviscapine reverses doxorubicin resistance in breast cancer and its related mechanisms [J]. *Thorac Cancer*, 2023, 14(27): 2785-2792. DOI:10.1111/1759-7714.15072.
- [6] 代丽丽, 王景, 魏许瑞, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路研究灯盏花乙素对子宫内腺癌 Ishikawa 细胞的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(1): 27-31. DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2024.01.006.
- [7] 韦辉, 王天珩, 高世奇. 灯盏花素调节 PI3K/AKT 通路增强人非小细胞肺癌 A549 细胞顺铂化疗敏感性[J]. *中医学报*, 2025, 40(5): 1108-1115. DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2025.05.178.
- [8] 王超, 贾瑞, 李健. 灯盏花素通过抑制 I κ B 激酶 β /核因子 κ B 通路抑制耐药非小细胞肺癌细胞的作用及其机制[J]. *世界临床药物*, 2021, 42(8): 638-647. DOI: 10.13683/j.wph.2021.08.006.
- [9] 王妮妮, 丁昱, 王琳, 等. 灯盏花素通过转录因子 cAMP 反应元件结合蛋白磷酸化促进细胞自噬保护心肌细胞缺血-再灌注损伤的机制研究[J]. *解放军医学院学报*, 2023, 44 (1): 43-49. DOI:10.3969/j.issn.2095-5227.2023.01.009.
- [10] 张倩, 刘艳娇, 贾晓龙, 等. 丹参酮 II A 通过调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对食管癌细胞放疗敏感性的影响[J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(11): 2645-2654. DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.11.001.
- [11] 黄梅芳, 王俊峰, 岳军, 等. (-)-表儿茶素通过调控 A549R 细胞自噬改善放疗敏感性的作用机制[J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(3): 55-59, 259-261. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2024.03.009.
- [12] 李燕飞, 黄灿, 罗平, 等. LOX-1 促进低氧诱导的内皮细胞自噬与凋亡[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2025, 30(8): 1017-1025.
- [13] GUPTA S, SILVEIRA D A, MOMBACH J C M, et al. The lncRNA DLX6-AS1/miR-16-5p axis regulates autophagy and apoptosis in non-small cell lung cancer: a Boolean model of cell death [J]. *Noncoding RNA Res*, 2023, 8(4): 605-614. DOI:10.1016/j.ncrna.2023.08.003.
- [14] PHONGSUWICHETSAK C, SUKSRICHAVALIT T, CHATUPHEERAPHAT C, et al. *Diospyros rhodocalyx* Kurz induces mitochondrial-mediated apoptosis *via* BAX, Bcl-2, and caspase-3 pathways in LNCaP human prostate cancer cell line [J]. *PeerJ*, 2024, 12: e17637. DOI:10.7717/peerj.17637.
- [15] MAYTALMAN E, NEMUTLU SAMUR D. Metamizole limits proliferation in chronic myeloid leukemia cells and triggers apoptosis *via* the bax/bcl-2/caspase-3 cascade [J]. *Med Oncol*, 2025, 42(8): 288. DOI:10.1007/s12032-025-02842-x.
- [16] 蔡元钦, 向阳, 龙清华, 等. 苋蓉散对阿尔茨海默病大鼠神经元细胞凋亡和 Bax/Bcl-2/Caspase3 信号通路的影响[J]. *中成药*, 2025, 47(4): 1122-1128. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.04.009.
- [17] JEDRAM O, MAPHANAO P, KARNCHANAPANDH K, et al. Corosolic acid induced apoptosis *via* upregulation of bax/bcl-2 ratio and caspase-3 activation in cholangiocarcinoma cells [J]. *ACS Omega*, 2023, 9(1): 1278-1286. DOI: 10.1021/acso-mega.3c07556.
- [18] SALAVATIPOUR M S, KOUHBANANINEJAD S M, LASHKARI M, et al. Kermanian *Propolis* induces apoptosis through upregulation of Bax/Bcl-2 ratio in acute myeloblastic leukemia cell line (NB4) [J]. *J Cancer Res Ther*, 2023, 19(2): 327-334. DOI:10.4103/jert.jert_1084_21.
- [19] 张颖, 王宇. 自噬蛋白 Beclin-1 与 N-myc 下游调控基因 2 在食管鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44(21): 2592-2597. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.21.007.
- [20] 何金秀, 陈乙菲, 魏毅, 等. 大黄虫丸对宫颈癌细胞自噬与凋亡的作用及机制研究[J]. *中医药导报*, 2025, 31(4): 14-20. DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.04.003.
- [21] RAJENDRAN P, RENU K, ALI E M, et al. Promising and challenging phytochemicals targeting LC3 mediated autophagy signaling in cancer therapy [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2024, 12 (10): e70041. DOI:10.1002/iid3.70041.
- [22] 袁宇晴, 龙丹, 谢超群, 等. 三物白散对胃癌细胞自噬相关蛋白 Beclin1、LC3、p62 表达的影响[J]. *中医药导报*, 2024, 30(3): 30-36. DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2024.03.006.
- [23] 田颖颖, 李依林, 田时秋, 等. 去氢木香内酯激活凋亡与自噬抑制人肺癌 A549 细胞生长[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(2): 73-80. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.20221626.

校稿: 刘颖 王娟

本文引用格式: 韦辉, 王天珩, 高世奇. 灯盏花素对人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖及放疗敏感性的影响[J]. *肿瘤药学*, 2025, 15(4): 510-516. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2025.04.11.

Cite this article as: WEI Hui, WANG Tianheng, GAO Shiqi. Effects of breviscapine on proliferation and radiotherapy sensitivity of human non-small cell lung cancer A549 cells[J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2025, 15(4): 510-516. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2025.04.11.