

丹参酮联合 TVB-3166 调控乳腺癌细胞 STING 通路的研究

李缘章 李雅彤 邹雅婷 黄靖 杨天慧 刘杰 杨细凤*

湖北理工学院, 湖北黄石 435000

摘要: 乳腺癌是全球女性高发恶性肿瘤, 三阴性乳腺癌因缺乏有效治疗靶点、易发生免疫逃逸, 临床治疗面临巨大挑战。脂肪酸合成酶 (FASN) 在乳腺癌组织中高表达, 参与肿瘤增殖与免疫抑制进程, 而 STING 信号通路是机体发挥抗肿瘤天然免疫的关键通路。本研究以乳腺癌细胞为研究对象, 探究丹参酮联合 FASN 抑制剂 TVB-3166 对乳腺癌细胞增殖及 STING 信号通路的调控作用, 分析二者联用的协同抗肿瘤效应, 阐明其潜在分子机制。研究结果证实, 丹参酮与 TVB-3166 联合使用可显著抑制乳腺癌细胞增殖, 有效激活 STING/TBK1/IRF3 信号通路。本研究为乳腺癌联合靶向治疗提供实验依据与新思路。

关键词: 乳腺癌; 丹参酮; TVB-3166; STING 信号通路; 抗肿瘤免疫

DOI: 10.64649/yh.shfzykjcx.issn3078-8994.202606018

0 引言

乳腺癌常年位居女性恶性肿瘤发病率首位, 严重威胁女性生命健康^[1]。流行病学数据显示, 三阴性乳腺癌 (TNBC) 作为恶性程度最高的乳腺癌亚型, 因雌激素受体、孕激素受体及人表皮生长因子受体均呈阴性, 暂无针对性靶向药物, 且存在早期转移、复发率高、化疗耐药等问题, 是乳腺癌临床治疗的重难点^[2]。

脂肪酸合成酶 (FASN) 是内源性脂肪酸合成的核心限速酶, 催化乙酰辅酶 A 合成脂肪酸, 为肿瘤细胞膜合成、能量代谢提供物质基础^[3]。TVB-3166 是一种口服高效、可逆性选择性 FASN 抑制剂, 可特异性阻断 FASN 催化功能, 减少细胞内棕榈酸酯合成, 诱导肿瘤细胞凋亡, 在多种实体瘤模型中展现出良好的抑瘤效果^[4]。现代药理研究证实, 丹参酮 II A 可抑制多种肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡, 且对正常人体细胞毒性极低, 兼具安全性与抗肿瘤活性, 在肿瘤辅助治疗领域应用前景广阔^[5]。大量研究表明, 乳腺癌细胞中 STING 信号通路常处于沉默或低活化状态, 是肿瘤实现免疫逃逸的重要原因^[6]。本研究通过体外细胞实验, 探究两药联用对乳腺癌细胞增殖能力及 STING 通路关键分子表达的影响, 明确二者联用的作用机制, 为乳腺癌中西医结合靶向治疗提供实验支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

丹参酮 II A、TVB-3166 购于 MCE 公司; DMEM 高糖培养液、胎牛血清、0.25% 胰蛋白酶、MTT 试剂购于碧云天试剂公司; STING、p-TBK1、p-IRF3 一抗、二抗购于 Abcam 公司。

1.2 实验分组

将 MDA-MB-231 细胞随机分为四组: 空

白对照组、丹参酮 II A (50 μ M)、TVB-3166 组 (20 μ M)、联合用药组 (丹参酮 II A 50 μ M + TVB-3166 20 μ M)。

1.3 MTT 实验检测细胞增殖能力

将细胞悬液接种于 96 孔培养板, 培养 12 h 待细胞贴壁后, 按实验分组加入相应药物处理。分别培养 24 h、36 h、48 h、60 h 后, 每孔加入 MTT 工作液孵育 4 h, 弃除孔内培养液, 加入二甲基亚砷振荡溶解结晶。采用多功能酶标仪检测 490 nm 波长下的吸光度 (OD) 值, 计算细胞增殖抑制率。

1.4 平板克隆形成实验检测细胞克隆能力

以每孔 50 个细胞的密度将细胞接种于六孔板, 常规培养至细胞贴壁后, 加入对应药物处理, 持续培养 2~3 周, 直至肉眼可见清晰细胞克隆。多聚甲醛固定后使用结晶紫染色液染色。

1.5 Western Blot 检测 STING 通路蛋白表达

药物处理细胞 48 h 后, 提取总蛋白。聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜、封闭处理后, 加入 STING、p-TBK1、p-IRF3 一抗, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜; 次日洗膜后加入对应二抗, 室温孵育 1 h。充分洗膜后滴加化学发光显影液, 采集蛋白条带图像。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计软件对实验数据进行分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组数据比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 丹参酮联合 TVB-3166 对乳腺癌细胞增殖的抑制作用

MTT 实验结果显示, 与空白对照组相比,

丹参酮组、TVB-3166 组乳腺癌细胞增殖能力均受到明显抑制，细胞抑制率随药物作用时间延长逐步升高 (P<0.05)；联合用药组对细胞的增殖抑制效果显著强于两种药物单独使用组 (P<0.01) (图1)。

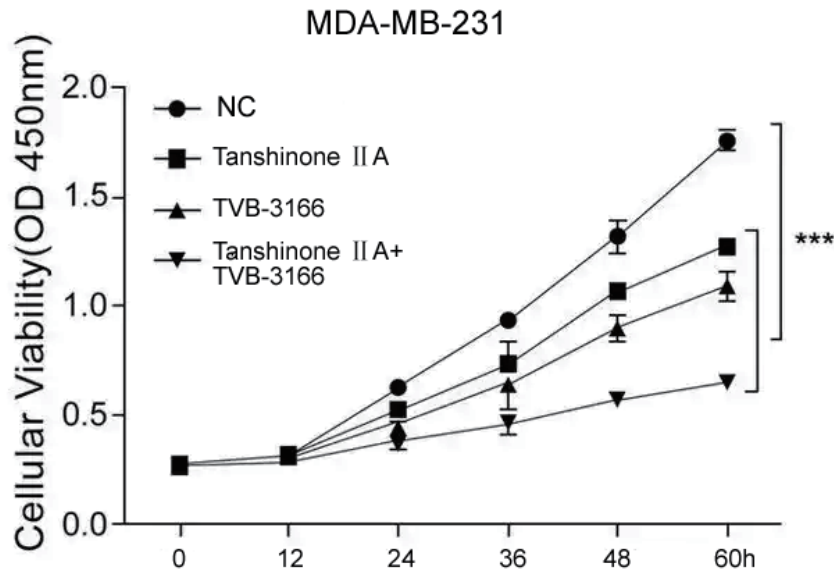


图1 MTT检测细胞增殖曲线

平板克隆实验结果表明，与空白对照组相比，丹参酮组与 TVB-3166 组克隆数量有所减少，克隆体积缩小；联合用药组细胞克隆数量显著降低，说明两药联用可长期抑制乳腺癌细胞的克隆增殖能力。

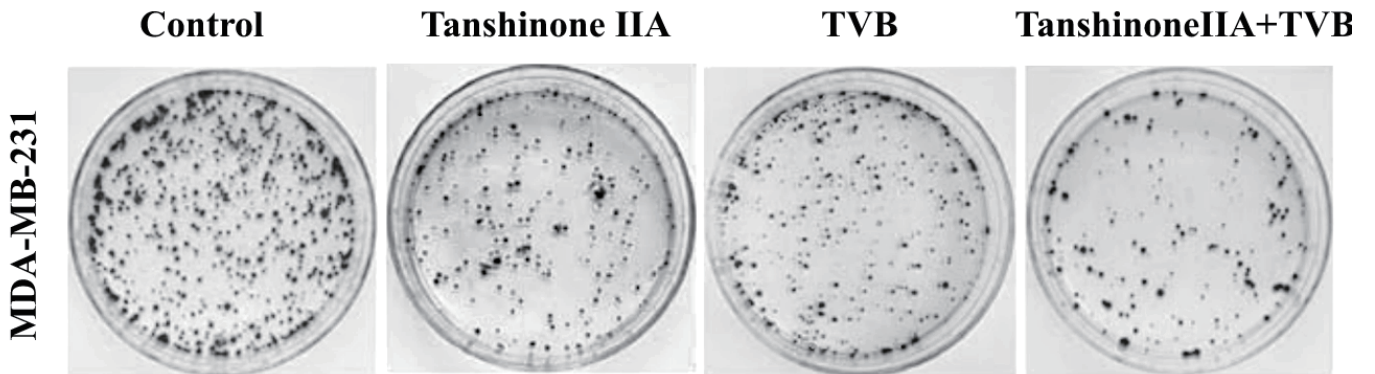


图2 平板克隆实验图

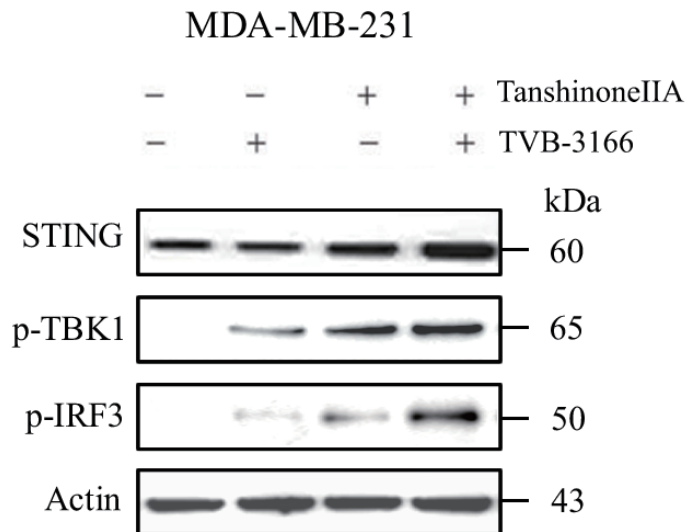


图3 Western blot结果显示STING以及p-TBK1、p-IRF3蛋白表达水平

2.2 丹参酮联合 TVB-3166 对 STING 通路关键蛋白表达的影响

Western Blot 结果显示, 空白对照组乳腺癌细胞中 STING 总蛋白表达水平较低, 磷酸化蛋白 p-TBK1、p-IRF3 表达量极少, 提示乳腺癌细胞内 STING 信号通路处于低活化状态。与对照组相比, 丹参酮组、TVB-3166 组 STING 通路蛋白及磷酸化蛋白表达水平轻度上调; 联合用药组 STING、p-TBK1、p-IRF3 蛋白表达量大幅增加。该结果证明, 丹参酮与 TVB-3166 联用可显著激活乳腺癌细胞 STING/TBK1/IRF3 信号通路, 促进通路蛋白磷酸化修饰, 启动下游信号传导。

3 讨论

FASN 介导的脂肪酸代谢异常是乳腺癌重要的恶性特征, 以 FASN 为靶点, 联合免疫激活策略, 是突破乳腺癌治疗瓶颈的有效路径^[7]。TVB-3166 作为特异性 FASN 抑制剂, 可直接阻断内源性脂肪酸合成, 抑制乳腺癌细胞增殖, 同时减少棕榈酸生成, 解除其对免疫蛋白的修饰抑制^[8]。但单一使用 FASN 抑制剂存在作用强度有限、长期使用易产生耐受等问题。丹参

酮 II A 作为丹参的核心活性物质, 传统应用于心脑血管疾病治疗, 现代药理研究证实其对多种恶性肿瘤具有抑制作用, 且对正常组织细胞无明显毒性, 用药安全性优势突出^[9]。

本实验证实, 丹参酮与 TVB-3166 联合使用后, 对乳腺癌细胞增殖、克隆形成的抑制效果显著优于单药使用, 二者存在明确的协同抗肿瘤作用。本研究发现, 乳腺癌细胞中 STING 通路活性低下, 这也是肿瘤逃避机体免疫监视的重要原因。实验结果表明, 丹参酮与 TVB-3166 联用可显著上调 STING 蛋白表达, 并促进蛋白磷酸化, 持续激活 STING 信号通路。综合分析作用机制: 一方面, TVB-3166 靶向抑制 FASN 活性, 阻断肿瘤脂肪酸代谢, 从根源上抑制肿瘤细胞增殖; 另一方面, 丹参酮发挥辅助抑瘤作用, 同时二者协同激活 STING 天然免疫通路, 唤醒机体抗肿瘤免疫。代谢靶向联合免疫激活的双重作用, 最终实现“抑瘤+免疫”的协同治疗效果。本研究为乳腺癌尤其是三阴性乳腺癌的联合靶向治疗提供了全新的实验依据, 也为中药活性成分联合化学小分子抑制剂治疗肿瘤提供了新的研究方向, 具备良好的理论价值与临床转化潜力。

参考文献:

- [1] 水一方, 胡荻, 苗轲轲, 等. 1990 至 2021 年全球红肉高摄入饮食导致的乳腺癌疾病负担变化趋势 [J]. 郑州大学学报 (医学版), 2025, (06): 854-857.
- [2] 河南省肿瘤诊疗质量控制中心乳腺癌专家委员会. 河南省肿瘤诊疗质量控制中心乳腺癌新辅助治疗专家共识 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2023, 30(24): 1461-1468.
- [3] 谢钰德, 李志升, 李圆, 等. 脂肪酸合成酶在乳腺癌治疗抵抗中的研究进展 [J]. 广东医学, 2023, 44(04): 519-524. DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.20223289.
- [4] Steen TV, Espinoza I, Duran C, et al. Fatty acid synthase (FASN) inhibition cooperates with BH3 mimetic drugs to overcome resistance to mitochondrial apoptosis in pancreatic cancer [J]. Neoplasia, 2025, 62: 101143.
- [5] Yadav S, Singh S, Singh M. Protective effects of Tanshinone IIA preconditioning against hypobaric hypoxia-induced lung injury in a rat model. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 2025, 398(10): 13803-13818.
- [6] Ishikawa, H., Ma, Z. & Barber, G. N. STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity. Nature 461, 788 - 792 (2009).
- [7] 谢钰德, 李志升, 李圆, 等. 脂肪酸合成酶在乳腺癌治疗抵抗中的研究进展 [J]. 广东医学, 2023, 44(04): 519-524. DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.20223289.
- [8] Mekhail K, Lee M, Sugiyama M, et al. FASN inhibitor TVB-3166 prevents S-acylation of the spike protein of human coronaviruses [J]. J Lipid Res. 2022, 63(9): 100256.
- [9] 陶叶琴, 刘辉, 高明果, 等. 基于“痰瘀互结”理论的丹楂通脉丸抗动脉粥样硬化作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2025, 1-12.

作者简介: 李缘章 (2006.03—), 女, 汉族, 湖北宜昌, 本科, 研究方向: 肿瘤医学。

通讯作者: 杨细凤 (1975.08—), 女, 汉族, 湖北大冶, 本科, 实验师, 研究方向: 中医药现代化与肿瘤。

项目信息: 肾脏疾病发生与干预湖北省重点实验室开放基金 (项目编号 SB202119); 湖北省大学生创新创业训练计划项目 (项目编号 :s202510920917); 湖北省自然科学基金创新发展联合基金项目 (项目编号 :2026AFC0016)。