

• 实验研究 •

蒲公英甾醇调节 Wnt/ β -catenin 通路抑制非小细胞肺癌的作用机制刘玉颖¹, 庞迎晨², 李文娟^{3*}

1. 北京大学深圳医院, 广东 深圳 518036

2. 深圳市新华医院 呼吸科, 广东 深圳 518110

3. 中山大学附属第三医院 呼吸与危重症医学科, 广东 广州 510630

摘要:目的 基于体内外模型, 探讨蒲公英甾醇对非小细胞肺癌的作用机制及其与 Wnt/ β -catenin 信号传导的相关性。方法 用不同浓度(0、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$)的蒲公英甾醇处理 A549 细胞, 优化药物浓度选择。将 A549 细胞分为对照组、蒲公英甾醇(10、20、40 $\mu\text{mol/L}$)、蒲公英甾醇(40 $\mu\text{mol/L}$) + CHIR99021 (10 $\mu\text{mol/L}$) 组。通过平板克隆实验检测增殖能力, 运用流式细胞技术分析凋亡情况, 结合划痕实验和 Transwell 小室法分别测定迁移和侵袭活性。利用 Western blotting 测定 Wnt/ β -catenin 信号转导途径关键分子的表达量。通过构建非小细胞肺癌荷瘤小鼠模型, 进一步评估蒲公英甾醇的体内抑瘤效果, 并证实 Wnt/ β -catenin 通路在其中起关键介导作用。结果 蒲公英甾醇在 5~80 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 A549 细胞活性具有显著抑制作用 ($P < 0.05$), IC_{50} 值为 33.95 $\mu\text{mol/L}$ 。相较于对照组, 蒲公英甾醇(10、20、40 $\mu\text{mol/L}$) 组检测克隆形成数、划痕愈合率、侵袭细胞数以及 Wnt 通路关键分子 (β -catenin、Cyclin D1、c-Myc) 蛋白表达水平及 GSK-3 β 磷酸化程度均显著降低, 而细胞凋亡率显著上升 ($P < 0.05$)。CHIR99021 能够逆转蒲公英甾醇对 A549 细胞的抑制效应。在动物实验中, 与模型组相比, 蒲公英甾醇组小鼠的皮下移植瘤体积、瘤质量显著降低 ($P < 0.05$); HE 染色结果显示, 蒲公英甾醇组的炎症浸润程度显著减轻; β -catenin、c-Myc、Cyclin D1 蛋白表达量及 GSK-3 β 磷酸化均显著下降 ($P < 0.05$)。结论 蒲公英甾醇通过调控 Wnt/ β -catenin 信号转导途径, 发挥其抗非小细胞肺癌效应。

关键词: 蒲公英甾醇; 非小细胞肺癌; Wnt/ β -catenin 信号通路; 细胞凋亡

中图分类号: R285.5; R286.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2026)04 - 0873 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.04.001

Mechanism of taraxsterol inhibiting non-small cell lung cancer by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway

LIU Yuying¹, PANG Yingchen², LI Wenjuan³

1. Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518036, China

2. Department of Respiratory Medicine, Shenzhen Xinhua Hospital, Shenzhen 518110, China

3. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China

Abstract: Objective Mechanism of action of taraxsterol on non-small cell lung cancer based on *in vitro* and *in vivo* models, and its correlation with Wnt/ β -catenin signaling were investigated. **Methods** A549 cells was treated with taraxsterol at different concentrations (0, 5, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{mol/L}$), to optimize the drug concentration selection. A549 cells were divided into control group, taraxsterol (10, 20, and 40 $\mu\text{mol/L}$), and taraxsterol (40 $\mu\text{mol/L}$) + CHIR99021 (10 $\mu\text{mol/L}$) group. Proliferation ability was measured by colony formation assay, apoptosis was analyzed by flow cytometry, and migration and invasion activities were measured by wound healing assay and Transwell chamber assay respectively. Western blotting was used to determine the expression of key molecules in the Wnt/ β -catenin signal transduction pathway. Tumor-bearing mouse model was established to further evaluate the *in vivo* tumor-suppressive effect of taraxsterol and to confirm the critical mediating role of the Wnt/ β -catenin pathway in this process. **Results**

收稿日期: 2025-12-10

作者简介: 刘玉颖, 女, 主治医师, 博士, 从事呼吸病学方向研究。E-mail: 756421895@qq.com

*通信作者: 李文娟, 女, 副主任医师, 博士, 从事肺部疾病方向研究。E-mail: liwenjuan@mail.susy.edu.com

Taraxsterol exhibited a significant inhibitory effect on the activity of A549 cells at concentrations ranging from 5 to 80 $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$), with IC50 value of 33.95 $\mu\text{mol/L}$. Compare with control group, taraxsterol (10, 20, and 40 $\mu\text{mol/L}$) groups showed significantly lower numbers of clone formation, scratch healing rates, invasive cell counts, and protein expression levels of key molecules in the Wnt pathway (β -catenin, Cyclin D1, c-Myc), as well as a significantly increased degree of GSK-3 β phosphorylation, while the cell apoptosis rate significantly increased ($P < 0.05$). CHIR99021 could reverse the inhibitory effect of taraxsterol on A549 cells. In the animal experiments, compare with model group, the subcutaneous tumor volume and tumor mass of mice in the gypsophila sterol group were significantly reduced ($P < 0.05$). HE staining results showed that the degree of inflammatory infiltration in the taraxsterol group was significantly reduced, the protein expression levels of β -catenin, c-Myc, Cyclin D1, and GSK-3 β phosphorylation were all significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Taraxsterol exerts its anti-tumor effects by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Key words: taraxsterol; non-small cell lung cancer; Wnt/ β -catenin signaling pathway; apoptosis

流行病学数据显示, 约 85% 肺癌病例为非小细胞肺癌亚型, 该疾病造成的死亡率在全球恶性肿瘤中居于首位^[1]。由于大多数非小细胞肺癌患者被诊断为晚期, 通常对传统的化疗和放疗反应不大, 因此非小细胞肺癌的治疗选择有限^[2]。寻找高效低毒的新型药物仍然是当前非小细胞肺癌的重点研究方向。Wnt/ β -catenin 信号转导途径在生物进化调控、个体发育过程和干细胞功能维持中发挥关键作用, 其异常活化与肺癌等多种恶性肿瘤的病理进程密切相关, 涉及细胞增殖失控、疾病恶化、干细胞特性维持及转移扩散等过程^[3-4]。蒲公英甾醇是从菊科植物蒲公英中提取的五环三萜类物质, 其化学结构与甾体激素具有相似性。Lu 等^[5]通过体内外实验共同证明蒲公英甾醇可通过诱导细胞凋亡和调节肿瘤微环境来发挥抗肿瘤作用, 这为蒲公英甾醇应用于非小细胞肺癌治疗提供了实验依据。鉴于 Wnt/ β -catenin 信号转导途径与非小细胞肺癌的病理进程关系密切, 本研究旨在探究蒲公英甾醇在体内外对非小细胞肺癌细胞的影响, 并阐明 Wnt/ β -catenin 信号通路是否介导蒲公英甾醇的抗肿瘤效应。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

实验动物为 SPF 级雄性裸鼠, 4~6 周龄, 体重 18~20 g, 购自广东维通利华实验动物技术有限公司, 动物生产许可证号 SCXK (粤) 2022-0063。本实验所有动物操作均经北京大学深圳医院实验动物伦理委员会批准 (审批号 PKUSZ20230921)。

A549 细胞株 (南京科佰生物科技有限公司, CBP60084); Ham's F-12K 培养基 (含抗生素, 武汉普诺赛生命科技有限公司, PM150910A); 胎牛血清 (FBS, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司, 10100139); 蒲公英甾醇 (质量分数 99.41%, 货号

HY-N1178)、CHIR99021 (质量分数 99.46%, HY-10182) 均购于美国 MedChemExpress 公司; 细胞增殖检测试剂盒、细胞凋亡分析试剂盒 [翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司, 货号 40203ES60、40302ES20]; β -连环蛋白 (β -catenin, 货号 ab32572)、磷酸化糖原合成酶激酶-3 β [p-GSK-3 β (Ser9), 货号 ab75814]、细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1, 货号 ab134175)、c-Myc 蛋白 (c-Myc, 货号 ab32072) 抗体 (英国 Abcam 公司); 紫杉醇注射液 (重庆莱美药业股份有限公司, 批号 Z231001, 规格 30 mg/支); HE 染色试剂盒 (上海碧云天生物技术股份有限公司, 货号 C0105S)。

Varioskan ALF 酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司), Attune NxT 流式细胞仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); CX33 光学显微镜 (日本 Olympus 公司)

1.2 细胞培养

使用含 10% FBS 的 Ham's F-12K 培养基 (含双抗) 重悬细胞, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的稳定温度及 5% CO_2 浓度的环境下进行培育。细胞每 2~3 天以 0.25% 胰蛋白酶消化传代。

1.3 药物浓度筛选

细胞经消化后接种至 96 孔板, 分别用 0、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$ 蒲公英甾醇处理 24 h。将 CCK-8 溶液与细胞共培养 2 h 后, 使用酶标仪在 450 nm 处检测吸光度 (A) 值, 评估细胞活力。

$$\text{细胞活力} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

1.4 细胞分组

对照组细胞采用单一培养基培养; 蒲公英甾醇 (10、20、40 $\mu\text{mol/L}$) 组分别在培养基中加入 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 蒲公英甾醇; 蒲公英甾醇 + CHIR99021 组将细胞与 40 $\mu\text{mol/L}$ 蒲公英甾醇和 10

$\mu\text{mol/L}$ CHIR99021 共培养。

1.5 细胞克隆形成实验

将消化收集的细胞悬液进行计数后,以适当密度接种于 60 mm 培养皿中,持续培养 14 d 以观察克隆形成情况。移除培养基后,使用 PBS 缓冲液洗涤细胞,随后依次进行 4%多聚甲醛固定处理和 0.1%结晶紫染色。最后,用 PBS 彻底清洗后,晾干并拍摄图片。将细胞数大于 50 的细胞集落定义为克隆,并利用 Image J 软件对结果进行量化。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡

将收集的细胞悬浮于 300 μL 结合缓冲液内,随后以 1 500 r/min 的速度离心 5 min。接着细胞用预冷 PBS 清洗 2 次。依据试剂盒提供的操作指南,采用 Annexin V FITC 和 PI 双染法,在避光条件下对细胞进行 15 min 染色。完成后,向各反应管中补充结合缓冲液,并利用流式细胞仪进行细胞分析。

1.7 划痕实验评估细胞迁移

将细胞悬液接种至 6 孔培养板,待其贴壁 12 h 后,使用 10 μL 移液器吸头垂直于培养表面制造划痕。经 PBS 缓冲液洗涤后,更换为新鲜完全培养基,置于培养箱中维持 24 h。于处理起始(0 h)和培养 24 h 后,分别采集划痕区域图像,采用 Image J 软件定量分析划痕闭合程度,评价细胞迁移活性。

1.8 Transwell 检测细胞侵袭

在 Matrigel 基质胶包被的 Transwell 上室中接种 100 μL 细胞悬液,下室补充 500 μL 含 10% FBS 的完全培养基,孵育 24 h。依次进行 4%多聚甲醛固定处理和 0.1%结晶紫染色后,封片并在显微镜下随机选取 6 个视野,计数穿膜细胞数量。

1.9 Western blotting 检测相关蛋白表达水平

总蛋白经 RIPA 缓冲液提取后,通过 10%SDS-PAGE 分离并转印至 PVDF 膜。用 5%脱脂奶粉封闭后,用 β -catenin、p-GSK-3 β (Ser9)、Cyclin D1、c-Myc 和 β -actin 的一抗在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜。随后,将膜与相应的二抗在室温下孵育 2 h。ECL 化学发光显影后,采用 Quantity One 软件对蛋白条带的灰度值进行定量分析。

1.10 裸鼠移植瘤模型构建

取对数增殖期的 A549 细胞,用 0.25%胰蛋白酶进行消化处理,无血清培养基重悬后注射于裸鼠背部皮下,每只注射 200 μL ,细胞总数约 1×10^7 个。当肿瘤长至 100 mm^3 左右时,将裸鼠随机模型组、紫杉醇组、蒲公英甾醇组。分组后紫杉醇组 ip 15

mg/kg 紫杉醇,每周给药 2 次;蒲公英甾醇组 ip 10 mg/kg 蒲公英甾醇^[6],每 3 天注射 1 次;模型组 ip 0.2 mL PBS,每 3 天注射 1 次。每 3 天测量一次肿瘤体积,持续 21 d。末次给药 24 h 后,处死裸鼠,取出瘤体并称质量。

1.11 HE 染色

分离小鼠肿瘤组织,将其置于 4%甲醛溶液中固定 24 h 以上,使用手术刀去除多余组织。将组织放入脱水盒中,依次使用梯度乙醇溶液和二甲苯进行脱水处理,取出组织放入石蜡液中包埋制备石蜡样本。将样本切成 4 μm 厚的薄片,使用二甲苯脱蜡和梯度乙醇水化处理。接着将切片放入苏木素染色 5 min,1%的盐酸酒精分化,0.6%氨水返蓝,流水冲洗 10 min。再次使用伊红染液染色切片 1~3 min,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂胶封片。在光学显微镜下观察组织的病理学变化。

1.12 统计学分析

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,采用 GraphPad Prism 8.0 统计软件进行数据处理和分析。组间差异通过 Student's *t* 检验或单因素方差分析评估。

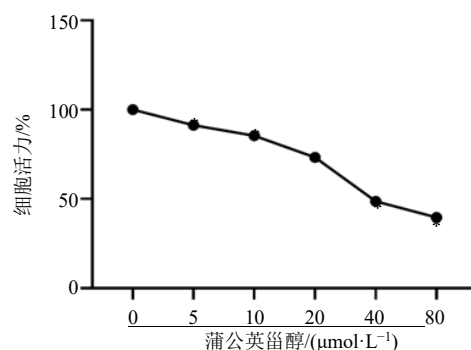
2 结果

2.1 蒲公英甾醇对 A549 细胞增殖的影响

蒲公英甾醇在 5~80 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 A549 细胞活性具有显著抑制作用 ($P < 0.05$),40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度处理可使细胞活性下降至 50%以下,其 IC_{50} 值为 33.95 $\mu\text{mol/L}$ 。基于此,后续实验选用 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 的蒲公英甾醇进行研究,见图 1 和表 1。

2.2 蒲公英甾醇对 A549 细胞克隆形成的影响

相较于对照组,蒲公英甾醇各浓度组的细胞克



与蒲公英甾醇 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs taraxsterol 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

图 1 蒲公英甾醇对 A549 细胞活力的抑制作用

Fig. 1 Inhibitory effect of taraxsterol on the viability of A549 cells

表 1 不同浓度蒲公英甾醇对 A549 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effects of different concentrations of taraxsterol on the survival rate of A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

蒲公英甾醇/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	24 h 细胞存活率/%
0	100.00 \pm 0.00
5	91.31 \pm 0.88*
10	85.46 \pm 0.97*
20	73.26 \pm 0.85*
40	48.64 \pm 0.58*
80	39.65 \pm 0.47*

与蒲公英甾醇 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs taraxsterol 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

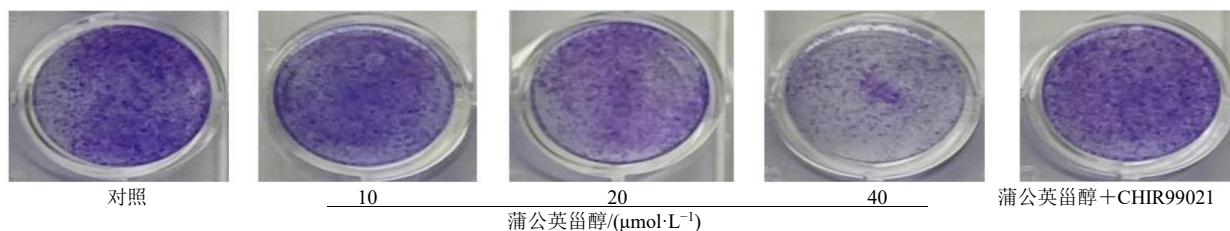


图 2 不同浓度蒲公英甾醇对 A549 细胞克隆形成的影响

Fig. 2 Effect of different concentrations of taraxsterol on the colony formation of A549 cells

表 2 不同浓度蒲公英甾醇对 A549 细胞克隆形成数目的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of different concentrations of taraxsterol on the number of clonal formations of A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	克隆形成数目
对照	—	198.56 \pm 21.31
蒲公英甾醇	10	143.91 \pm 18.55*
	20	112.38 \pm 13.57*#
	40	78.98 \pm 9.85*#@
蒲公英甾醇 + CHIR99021	40+10	155.69 \pm 16.76&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与蒲公英甾醇 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$; 与蒲公英甾醇 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: @ $P < 0.05$; 与蒲公英甾醇 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs taraxsterol 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group; @ $P < 0.05$ vs taraxsterol 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group; & $P < 0.05$ vs taraxsterol 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

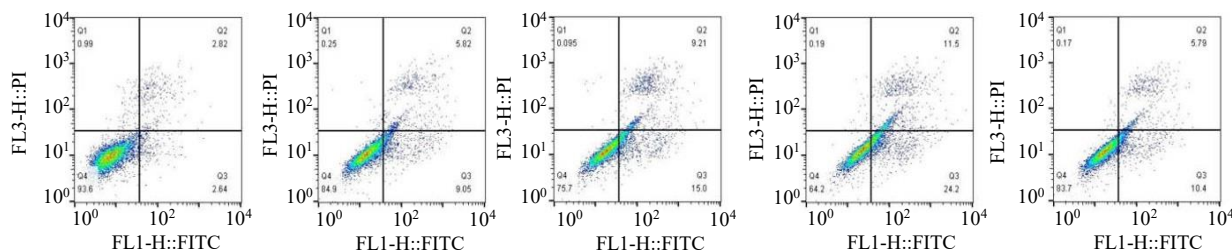


图 3 不同浓度蒲公英甾醇对 A549 细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of taraxsterol on the apoptosis of A549 cells

隆形成数量显著减少 ($P < 0.05$), 且呈浓度相关性; 与蒲公英甾醇 40 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组相比, 蒲公英甾醇 + CHIR99021 组的细胞克隆形成数量明显增多 ($P < 0.05$), 见图 2 和表 2。

2.3 蒲公英甾醇对 A549 细胞凋亡的影响

与对照组相比, 蒲公英甾醇各浓度组的细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.05$), 且随浓度相关性; 与蒲公英甾醇 40 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组相比, 蒲公英甾醇 + CHIR99021 组的凋亡率明显降低 ($P < 0.05$), 见图 3 和表 3。

2.4 蒲公英甾醇对 A549 细胞迁移的影响

与对照组相比, 蒲公英甾醇各浓度组划痕愈合

率显著降低 ($P < 0.05$), 且呈浓度相关性; 与蒲公英甾醇 40 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组相比, 蒲公英甾醇 + CHIR99021 组划痕愈合率明显提高 ($P < 0.05$), 见图 4 和表 4。

2.5 蒲公英甾醇对 A549 细胞侵袭的影响

与对照组相比, 蒲公英甾醇各浓度组的侵袭细胞数量显著减少, 且呈浓度相关性 ($P < 0.05$); 与蒲公英甾醇 40 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组相比, 蒲公英甾醇 + CHIR99021 组的侵袭细胞数量较明显增加 ($P < 0.05$), 见图 5 和表 5。

2.6 蒲公英甾醇对 A549 细胞中 Wnt/ β -catenin 通路相关蛋白的调控作用

Western blotting 结果表明, 与对照组相比, 蒲公英甾醇各浓度组 β -catenin、Cyclin D1、c-Myc 蛋白表达水平及 GSK-3 β 磷酸化程度显著降低 ($P <$

表 3 不同浓度蒲公英甾醇对 A549 细胞凋亡率的影响
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effect of different concentrations of taraxsterol on the apoptosis rate of A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	凋亡率/%
对照	—	5.64±0.71
蒲公英甾醇	10	15.36±0.95*
	20	25.38±1.11*#
	40	37.41±1.58*#&
蒲公英甾醇+CHIR99021	40+10	17.67±0.84&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与蒲公英甾醇 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$; 与蒲公英甾醇 $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: @ $P < 0.05$; 与蒲公英甾醇 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs taraxsterol $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group;

@ $P < 0.05$ vs taraxsterol $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group; & $P < 0.05$ vs taraxsterol

$40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

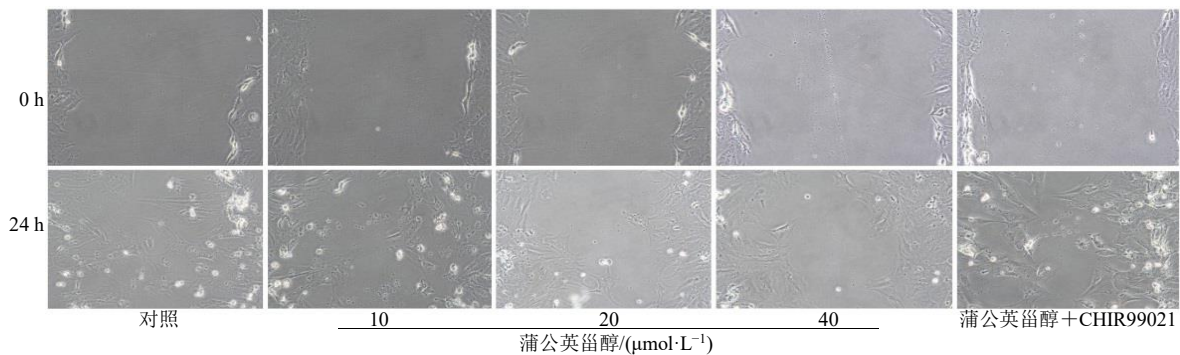


图 4 不同浓度蒲公英甾醇对 A549 细胞划痕愈合的影响 ($\times 200$)

Fig. 4 Effect of different concentrations of taraxsterol on the scratch healing of A549 cells ($\times 200$)

表 4 不同浓度蒲公英甾醇对 A549 细胞划痕愈合率的影响
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effect of different concentrations of taraxsterol on the scratch healing rate of A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	划痕愈合率/%
对照	—	87.31±7.64
蒲公英甾醇	10	77.48±9.39*
	20	63.32±7.85*#
	40	54.88±6.48*#&
蒲公英甾醇+CHIR99021	40+10	78.38±9.74&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与蒲公英甾醇 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$; 与蒲公英甾醇 $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: @ $P < 0.05$; 与蒲公英甾醇 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs taraxsterol $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group;

@ $P < 0.05$ vs taraxsterol $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group; & $P < 0.05$ vs taraxsterol

$40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

2.8 蒲公英甾醇对荷瘤小鼠肿瘤组织中 Wnt/ β -catenin 通路蛋白的调控作用

Western blotting 分析结果表明,与模型组相比,

且呈浓度相关性;与蒲公英甾醇 $40 \mu\text{mol}/\text{L}$ 组相比,蒲公英甾醇+CHIR99021 组显著提高了 β -catenin、Cyclin D1、c-Myc 的蛋白表达水平, GSK-3 β 磷酸化程度提高 ($P < 0.05$)。见图 6 和表 6。

2.7 蒲公英甾醇对荷瘤小鼠肿瘤生长的影响

为了验证蒲公英甾醇的体内抗肿瘤作用,本研究使用 A549 细胞建立异种移植肿瘤模型小鼠。治疗第 21 天,和模型组相比,紫杉醇组和蒲公英甾醇组的肿瘤体积和终末瘤质量均有显著降低 ($P < 0.05$);而相比于紫杉醇组,蒲公英甾醇组肿瘤体积和质量降低更显著 ($P < 0.05$),见图 7A、B。HE 染色结果也表明,模型组细胞异性,大小不一,排列不规则,并可见部分纤维组织增生或血管增生;相比于模型组,紫杉醇组和蒲公英甾醇组的组织形态均有明显的恢复,见图 7C。

蒲公英甾醇组 β -catenin、c-Myc、Cyclin D1 及 GSK-3 β 磷酸化均显著下降 ($P < 0.05$),见图 8 和表 7。

3 讨论

肺癌在我国恶性肿瘤相关死亡中居于首位。研究证实,从蒲公英中分离的活性成分蒲公英甾醇具有显著的肿瘤抑制效果^[7]。Wnt/ β -catenin 信号转导通路在恶性肿瘤的病理进程中起着关键的调控作用。 β -catenin 作为 Wnt 通路的关键调控因子,在非小细胞肺癌的增殖和转移调控网络中扮演重要角色^[8]。作为 Wnt 经典通路的负性调控因子, GSK-3 β 在细胞增殖与程序性死亡之间的稳态维持中发挥重要作用。当 Wnt 蛋白与其受体结合时,会阻止由细胞支架蛋白、GSK-3 β 等组成的降解复合体对 β -catenin 的降解作用。此外, Cyclin D1 和 c-Myc 基因作为 Wnt 通路的下游靶点,分别参与调控细胞增殖和凋亡等生物学过程^[8-9]。Ji 等^[11]研究表明,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路能够通过诱导 Akt 和 GSK-

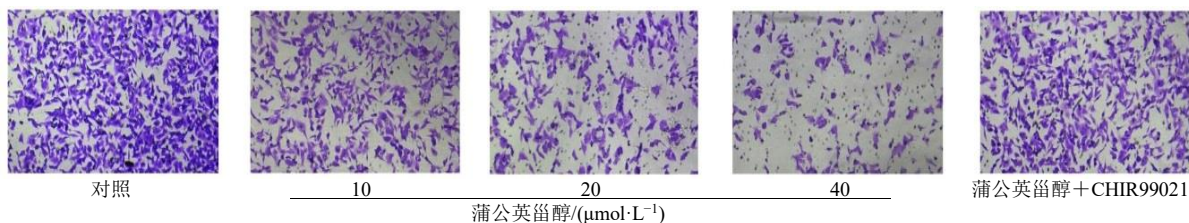


图 5 不同浓度蒲公英甾醇对 A549 细胞侵袭能力的影响 (×200)

Fig. 5 Effect of different concentrations of taraxsterol on the invasion ability of A549 cells (× 200)

表 5 不同浓度蒲公英甾醇对 A549 细胞侵袭的影响 (x̄ ± s, n = 6)

Table 5 Effects of different concentrations of taraxsterol on the invasion of A549 cells (x̄ ± s, n = 6)

组别	浓度/(μmol·L ⁻¹)	侵袭细胞数目
对照	—	203.33 ± 18.85
蒲公英甾醇	10	167.86 ± 15.51*
	20	138.37 ± 12.97*#
	40	95.45 ± 8.37*#&
蒲公英甾醇 + CHIR99021	40 + 10	176.65 ± 14.58&

与对照组比较: *P < 0.05; 与蒲公英甾醇 10 μmol·L⁻¹ 组比较: #P < 0.05; 与蒲公英甾醇 20 μmol·L⁻¹ 组比较: @P < 0.05; 与蒲公英甾醇 40 μmol·L⁻¹ 组比较: &P < 0.05。

*P < 0.05 vs control group; #P < 0.05 vs taraxsterol 10 μmol·L⁻¹ group; @P < 0.05 vs taraxsterol 20 μmol·L⁻¹ group; &P < 0.05 vs taraxsterol 40 μmol·L⁻¹ group.

表 6 各组 A549 细胞中与 Wnt/β-catenin 信号通路相关蛋白的表达水平 (x̄ ± s)

Table 6 Expression levels of proteins related to the Wnt/β-catenin signaling pathway in A549 cells of each group (x̄ ± s)

组别	浓度/(μmol·L ⁻¹)	蛋白相对表达量			
		β-catenin	p-GSK-3β (Ser9)	Cyclin D1	c-Myc
对照	—	1.06 ± 0.08	1.03 ± 0.11	0.98 ± 0.06	1.05 ± 0.13
蒲公英甾醇	10	0.86 ± 0.09*	0.78 ± 0.03*	0.81 ± 0.07*	0.83 ± 0.12*
	20	0.64 ± 0.05*#	0.67 ± 0.07*#	0.56 ± 0.02*#	0.61 ± 0.08*#
	40	0.43 ± 0.07*#&	0.49 ± 0.12*#&	0.34 ± 0.07*#&	0.45 ± 0.09*#&
蒲公英甾醇 + CHIR99021	40 + 10	0.83 ± 0.04&	0.91 ± 0.12&	0.76 ± 0.09&	0.85 ± 0.06&

与对照组比较: *P < 0.05; 与蒲公英甾醇 10 μmol·L⁻¹ 组比较: #P < 0.05; 与蒲公英甾醇 20 μmol·L⁻¹ 组比较: @P < 0.05; 与蒲公英甾醇 40 μmol·L⁻¹ 组比较: &P < 0.05。

*P < 0.05 vs control group; #P < 0.05 vs taraxsterol 10 μmol·L⁻¹ group; @P < 0.05 vs taraxsterol 20 μmol·L⁻¹ group; &P < 0.05 vs taraxsterol 40 μmol·L⁻¹ group.

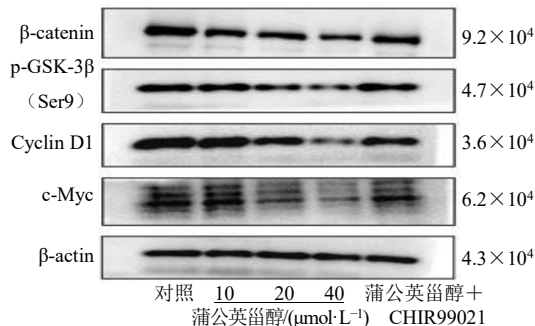
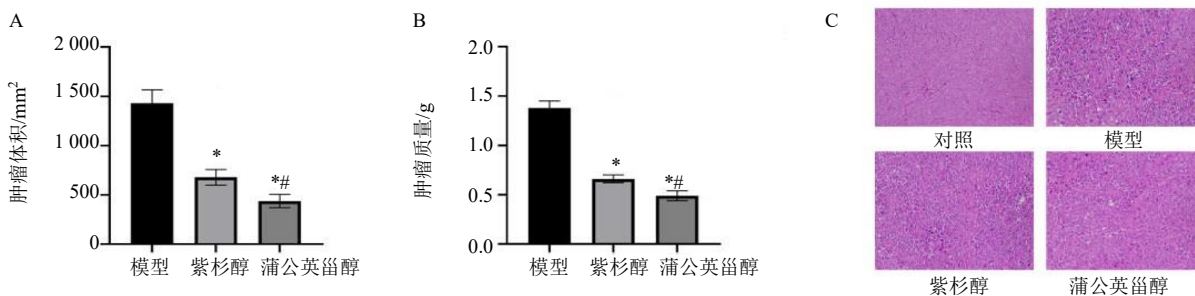


图 6 各组 A549 细胞中与 Wnt/β-catenin 信号通路相关的蛋白表达

Fig. 6 Protein expression related to the Wnt/β-catenin signaling pathway in each group of A549 cells



与模型组比较: *P < 0.05; 与紫杉醇组比较: #P < 0.05。

*P < 0.05 vs model group; #P < 0.05 vs paclitaxel group.

图 7 各组小鼠肿瘤体积 (A)、各组小鼠终末瘤质量 (B)、肿瘤组织 HE 染色 (C, ×200)

Fig. 7 Tumor volume (A), final tumor mass (B), HE staining of tumor tissue (C, × 200) of each group of mice

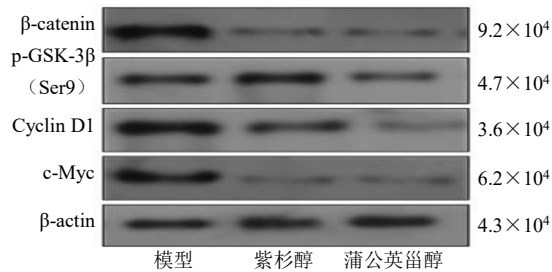


图 8 各组小鼠肿瘤组织中 Wnt/β-catenin 信号通路相关的蛋白表达

Fig. 8 Expression of proteins related to the Wnt/β-catenin signaling pathway in tumor tissues of each group of mice

表 7 各组小鼠肿瘤组织中与 Wnt/β-catenin 信号通路相关蛋白的表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 7 Expression levels of proteins related to the Wnt/β-catenin signaling pathway in tumor tissues of each group of mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	蛋白相对表达量			
		β-catenin	p-GSK-3β (Ser9)	Cyclin D1	c-Myc
模型	—	1.64 ± 0.06	0.87 ± 0.09	1.58 ± 0.08	1.22 ± 0.11
紫杉醇	15	0.53 ± 0.07*	0.91 ± 0.08	1.51 ± 0.10	0.43 ± 0.05*
蒲公英甾醇	10	0.48 ± 0.06*	0.62 ± 0.07*#	0.46 ± 0.06*#	0.38 ± 0.04*

与模型组比较: * $P < 0.05$; 与紫杉醇组比较: # $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs model group; # $P < 0.05$ vs paclitaxel group.

蒲公英甾醇组相比, 蒲公英甾醇、CHIR99021 联合处理组 A549 细胞增殖、迁移、侵袭能力及 β-catenin、Cyclin D1、c-Myc 蛋白表达和 GSK-3β 磷酸化水平显著增加, 细胞凋亡水平明显下降 ($P < 0.05$)。提示蒲公英甾醇可能通过降低 p-GSK-3β (Ser9) 水平来增强 GSK-3β 的功能, 从而影响 Wnt/β-catenin 信号转导通路, 下调 Cyclin D1、c-Myc 蛋白表达, 促进非小细胞肺癌细胞凋亡。

本研究使用细胞系来源的异种移植建立小鼠模型, 分析蒲公英甾醇的体内抗肿瘤特点。本研究以紫杉醇组作为阳性对照, 研究结果表明蒲公英甾醇和紫杉醇均可以显著降低肿瘤体积, 延缓肿瘤的生长, 并改善肿瘤组织的病理特征。而相比于紫杉醇, 蒲公英甾醇抑制肿瘤生长的作用更加有效, 治疗效果更好。另一方面, 蛋白检测结果也表明蒲公英甾醇处理可以抑制肿瘤组织中 Wnt/β-catenin 通路蛋白的激活, 下调 Cyclin D1、c-Myc 蛋白表达, 再次验证了蒲公英甾醇通过下调 Wnt/β-catenin 信号通路活性抑制肿瘤细胞生长, 发挥抗癌作用。Zhu 等^[15]研究也表明, 蒲公英甾醇可通过 Wnt/β-catenin 通路逆转乳头状甲状腺癌细胞上皮-间质转化过程, 显著抑制 TGF-β1 诱导的细胞迁移和侵袭。邱

慧萍等^[16]的研究中, 蒲公英甾醇可通过调节 Wnt 信号通路, 抑制 TGF-β1 诱导的肺泡上皮细胞上皮-间质转化过程, 减少细胞分裂与增殖, 降低细胞外基质分泌, 减轻炎症反应, 从而显著抑制肺纤维化的进展。李冬玫^[6]的研究中, 蒲公英甾醇通过靶向 PIK3R1 和 Akt2 分子, 影响 PI3K/Akt/mTOR/ECM 通路, 减少 I 型胶原蛋白的生成, 从而增强了 DCs-vas 的抗肿瘤效应, 并提高肿瘤细胞对 CTLs 杀伤的敏感性。GSK-3β 既是 PI3K/Akt 信号通路的下游靶蛋白, 也是参与 Wnt/β-catenin 信号转导的关键作用因子^[17]。本研究观察到蒲公英甾醇能够显著降低 p-GSK-3β (Ser9) 水平, 提示其可能通过增强 GSK-3β 活性来抑制 Wnt/β-catenin 信号转导。

综上所述, 蒲公英甾醇可能经由 Wnt/β-catenin 信号传导途径的调控, 抑制 A549 细胞的增殖、迁移及侵袭表型, 并诱导细胞凋亡。在模型小鼠中, 蒲公英甾醇也能通过抑制 Wnt/β-catenin 通路抑制肿瘤体积生长。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Relli V, Trerotola M, Guerra E, et al. Abandoning the notion of non-small cell lung cancer [J]. *Trends Mol Med*,

- 2019, 25(7): 585-594.
- [2] Zhou Q, Chen M, Jiang O, *et al.* Sugemalimab versus placebo after concurrent or sequential chemoradiotherapy In patients with locally advanced, unresectable, stage III non-small-cell lung cancer in China (GEMSTONE-301): interim results of a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2022, 23(2): 209-219.
- [3] Sarode P, Zheng X, Giotopoulou GA, *et al.* Reprogramming of tumor-associated macrophages by targeting β -catenin/FOSL2/ARID5A signaling: A potential treatment of lung cancer [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(23): eaaz6105.
- [4] Li Z Q, Wu S W, Liu W. Advances of Wnt/ β -catenin signaling pathway in lung cancer: A review [J]. *Altern Ther Health Med*, 2024, 30(1): 238-247.
- [5] Lu J J, Shuai B, Shou Z X, *et al.* Taraxasterol inhibits tumor growth by inducing apoptosis and modulating the tumor microenvironment in non-small cell lung cancer [J]. *Cancers*, 2022, 14(19):4645.
- [6] 李冬玫. 蒲公英甾醇联合 DC 肿瘤疫苗抑制 NSCLC 的作用及机制 [D]. 遵义: 遵义医科大学, 2023.
- [7] Xie J L, Ou Y F, Fu Q J, *et al.* Taraxasterol exhibits dual biological effects on anti-aging and anti-cancer in lung cells [J]. *Am J Cancer Res*, 2024, 14(6): 2755-2769.
- [8] Kim D E, Shin S B, Kim C H, *et al.* PLK1-mediated phosphorylation of β -catenin enhances its stability and transcriptional activity for extracellular matrix remodeling in metastatic NSCLC [J]. *Theranostics*, 2023, 13(3): 1198-1216.
- [9] Zhang X L, Tian L F, Li Z Y, *et al.* CAMK2N1 has a cancer-suppressive function in colorectal carcinoma via effects on the Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 626: 220-228.
- [10] Xing Y H, Hu Y L, Zou H Z, *et al.* A novel O2- (2,4-dinitrophenyl) diazeniumdiolate inhibits hepatocellular carcinoma migration, invasion, and EMT through the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Toxicol In Vitro*, 2022, 84: 105456.
- [11] Ji P, Zhou Y X, Yang Y B, *et al.* Myeloid cell-derived LL-37 promotes lung cancer growth by activating Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Theranostics*, 2019, 9(8): 2209-2223.
- [12] Ye L, Xiang T X, Zhu J, *et al.* Interferon consensus sequence-binding protein 8, a tumor suppressor, suppresses tumor growth and invasion of non-small cell lung cancer by interacting with the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(2): 961-978.
- [13] Ren C, Chen X H, Du N, *et al.* Low-intensity pulsed ultrasound promotes Schwann cell viability and proliferation via the GSK-3 β / β -catenin signaling pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(5): 497-507.
- [14] Yu J H, Liu D, Sun X J, *et al.* CDX2 inhibits the proliferation and tumor formation of colon cancer cells by suppressing Wnt/ β -catenin signaling via transactivation of GSK-3 β and Axin2 expression [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(1): 26.
- [15] Zhu J, Li X, Zhang S, *et al.* Taraxasterol inhibits TGF- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition in papillary thyroid cancer cells through regulating the Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40(12_suppl): S87-S95.
- [16] 邱慧萍, 樊丹丹, 张莉. 蒲公英甾醇通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制转化生长因子 β 1 对肺纤维化的改善作用 [J]. *中国当代医药*, 2024, 31(35): 16-22.
- [17] Hao Q Y, Gao L H, Niu W Y, *et al.* POTEE stimulates the proliferation of pancreatic cancer by activating the PI3K/Akt/GSK-3 β / β -catenin signaling [J]. *Biofactors*, 2020, 46(4): 685-692.

[责任编辑 高源]