

光甘草定调节 JAK2/STAT3 信号通路对食管癌细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移的影响

杨丽娜, 侯亚琼

河南医学高等专科学校, 河南 郑州 451191

摘要: 目的 探究光甘草定 (GLA) 对食管癌细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移的影响并分析其是否与调节 Janus 蛋白酪氨酸激酶 2 (JAK2) /信号转导和转录激活因子 3 (STAT3) 通路有关。方法 MTT 法检测 0、10、20、40、80、160、320 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GLA 对人食管癌细胞 KYSE150 存活率的影响, 并计算半数抑制浓度 (IC_{50})。确定 80、40、20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为后续实验 GLA 浓度, 并设置对照组、GLA (80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + Colivelin (0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, JAK2/STAT3 通路激活剂) 组、GLA (80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + baricitinib (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, JAK2 抑制剂) 组, CCK8 法检测细胞活力, 集落形成实验检测细胞克隆能力, 流式细胞仪检测细胞凋亡, Transwell 实验检测细胞侵袭, 伤口愈合实验检测细胞迁移, Western blotting 法检测 JAK2/STAT3 通路及增殖、迁移蛋白表达。建立食管癌裸鼠模型, 随机分为模型组和 GLA (50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组, 每天 ig 给药 1 次, 治疗 3 周后处死小鼠, 分析肿瘤质量、体积, 免疫组化染色分析组织中 JAK2、STAT3 阳性表达。结果 与对照组比较, GLA 组凋亡率显著升高 ($P < 0.05$), 细胞活力、细胞克隆数、侵袭数、迁移率显著降低 ($P < 0.05$)。与 GLA 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较, GLA + Colivelin 组凋亡率显著降低 ($P < 0.05$), 细胞活力、细胞克隆数、侵袭数、迁移率显著升高 ($P < 0.05$); GLA + baricitinib 组细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.05$), 活力、细胞克隆数、侵袭数、迁移率显著降低 ($P < 0.05$)。与对照组比较, GLA 组细胞 Bax 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$), p-JAK2、p-STAT3、c-MYC、Ki67、基质金属蛋白酶 9 (MMP-9) 表达显著降低 ($P < 0.05$)。与 GLA 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较, GLA + Colivelin 组 Bax 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$), p-JAK2、p-STAT3、c-MYC、Ki67、MMP-9 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$); GLA + baricitinib 组 Bax 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$), p-JAK2、p-STAT3、c-MYC、Ki67、MMP-9 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组裸鼠比较, GLA 组肿瘤质量和体积显著降低 ($P < 0.05$), JAK2、STAT3 阳性表达率显著降低 ($P < 0.05$)。结论 GLA 可能抑制 JAK2/STAT3 通路, 进而抑制食管癌细胞增殖、侵袭、迁移, 并促进凋亡。

关键词: 光甘草定; Janus 蛋白酪氨酸激酶 2/信号转导和转录激活因子 3 通路; 食管癌; 凋亡; 迁移

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2024) 09-2049-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.09.012

Effects of glabridin on proliferation, apoptosis, invasion, and migration of esophageal cancer cells by regulating JAK2/STAT3 signaling pathway

YANG Lina, HOU Yaqiong

Henan Medical College, Zhengzhou 451191, China

Abstract: Objective To investigate the effects of glabridin (GLA) on the proliferation, apoptosis, invasion, and migration of esophageal cancer cells and analyze whether it is related to the regulation of the Janus kinase 2 (JAK2)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) pathway. **Methods** MTT assay was used to detect the cell survival rates of GLA intervention at 0, 10, 20, 40, 80, 160, and 320 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, and IC_{50} was calculated. 80, 40, and 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ were determined as the doses for subsequent experiments in the GLA group, and control group, GLA (80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + Colivelin (0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, JAK2/STAT3 pathway activator) group, GLA (80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + baricitinib (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, JAK2 inhibitor) group were set up. CCK8 method was applied to detect cell viability, colony formation experiment was applied to detect cell cloning ability, transwell experiment was applied to detect cell invasion, the wound healing experiment was applied to detect cell migration, and immunoblotting was applied to detect the JAK2/STAT3 pathway and the expression of proliferation and migration proteins. A nude mouse model of esophageal cancer was established and randomly separated into a model group and a GLA (50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) group. Administer ig once a day, euthanize mice

收稿日期: 2024-04-29

基金项目: 河南省教育科学“十四五”规划项目 (2021YB0515)

第一作者: 杨丽娜 (1980—), 女, 硕士研究生, 讲师, 研究方向为生理学教育教学及相关疾病病理生理机制的研究。E-mail: m05hpl@163.com

after three weeks of treatment, analyze tumor mass and volume, and perform immunohistochemical staining to analyze JAK2 and STAT3 positive expression in tissues. **Results** Compared with the control group, the apoptosis rate of the GLA group increased, while the cell viability, cell clone number, invasion number, and migration rate decreased ($P < 0.05$). Compared with the GLA $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group, the cell viability, number of cell clones, number of invasions, and migration rate in GLA+Colivelin group increased, while the apoptosis rate decreased ($P < 0.05$), the apoptosis rate of cells in the GLA+baricitinib group increased, while the vitality, number of cell clones, number of invasions, and migration rate decreased ($P < 0.05$). Compared with control group, the expression of Bax in cells of the GLA group increased, while the expression of p-JAK2, p-STAT3, c-MYC, Ki67, and MMP-9 decreased ($P < 0.05$). Compared with the GLA $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group, the expression of p-JAK2, p-STAT3, c-MYC, Ki67, and MMP-9 in the GLA+Colivelin group increased, while the expression of Bax decreased ($P < 0.05$); the expression of Bax in the GLA+baricitinib group increased, while the expression of p-JAK2, p-STAT3, c-MYC, Ki67, and MMP-9 decreased ($P < 0.05$). Compared with the nude mice in model group, the tumor mass and volume in the GLA group decreased ($P < 0.05$), and the positive expression rates of JAK2 and STAT3 in the GLA group decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** GLA can inhibit the JAK2/STAT3 pathway, thereby inhibiting the proliferation, invasion, migration, and promoting apoptosis of esophageal cancer cells.

Key words: glabridin; Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 pathway; esophageal cancer; apoptosis; migration

食管癌是全球第七大癌症,近几年来发病率不断上升,由于多数病例处于晚期,不适合切除,因此常选择放化疗作为其标准疗法,可改善食管癌患者的预后和生存率,但5年生存率仍然相对较差^[1]。因此,迫切需要能改善预后及生活质量的新疗法。光甘草定(GLA)是源自甘草的一种多酚类黄酮,具有抗肿瘤、抗炎、抗微生物、抗氧化等生物学特性及多种信号通路的调节活性,但其分子调控机制仍需进一步研究^[2-3]。Janus蛋白酪氨酸激酶2(JAK2)是非受体蛋白,能与细胞质区域的细胞因子受体结合,激活信号转导和转录激活因子3(STAT3),介导致癌基因表达,并调节DNA转录,最终调节靶细胞的增殖、凋亡、侵袭和免疫活性,有助于上皮间质转化(EMT)和肿瘤发生^[4]。STAT3是EMT的上游介质,能够诱导EMT介导的多种肿瘤转移,提高癌细胞生长速度,会影响癌症的干性和免疫逃逸,介导耐药的致瘤途径,最终促进肿瘤进展^[5]。既往报道,SOX12能激活JAK2/STAT3通路,维持食管鳞癌细胞活力,增强细胞运动性,提高迁移和侵袭能力,进而影响食管癌的恶性转化及预后^[6]。目前关于GLA对食管癌细胞影响的研究较少,本研究旨在分析GLA对食管癌细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移的影响,并探索其机制,以期对食管癌的临床诊疗提供新方向。

1 材料

1.1 实验动物

12只SPF级4~5周龄雄性BALB/c裸鼠,购于郑州市惠济区华兴实验动物养殖场,实验动物生产许可证号SCXK(豫)2019-0002。实验设计经河南

中检验检测技术有限公司动物伦理委员会批准(批准文号2023003)。

1.2 细胞

人食管癌细胞KYSE150,购自北京伊塔生物科技有限公司。

1.3 主要试剂

GLA(CAS号59870-68-7,质量分数 $\geq 98\%$)、MTT试剂盒、CCK-8试剂盒,均购自北京伊塔生物科技有限公司;DMEM培养基、Annexin V-FITC/PI试剂盒(货号PM150210B、P-CA-201,武汉普诺赛生命科技有限公司);JAK2抑制剂baricitinib、JAK2/STAT3通路激活剂Colivelin(CAS号1187594-09-7、867021-83-8,艾美捷科技有限公司);p-JAK2抗体、p-STAT3抗体、c-MYC抗体、肿瘤增殖抗原(Ki67)抗体、基质金属蛋白酶9(MMP-9)抗体、Bax抗体、 β -actin抗体、二抗、JAK2抗体、STAT3抗体(货号分别为MA5-49770、MA5-15193、MA1-980、MA5-14520、MA5-32705、MA5-14003、MA1-140、PA1-28587、MA5-44619、710077),均购自赛默飞世尔科技公司。

1.4 主要仪器

iBright™ CL750凝胶成像系统、Multiskan SkyHigh酶标仪、EVOS M5000显微镜均购自赛默飞世尔科技公司。

2 方法

2.1 细胞培养

KYSE150细胞培养于DMEM培养基,置于37℃、5% CO₂培养箱传代,取对数期细胞进行实验。

2.2 MTT法检测细胞增殖

KYSE150细胞接种于96孔板(每孔 1×10^5 个),培养24 h后,用0、10、20、40、80、160、320 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GLA干预,24 h后加MTT溶液($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)37 °C孵育4 h,加DMSO混匀,酶标仪记录570 nm处吸光度(A)值,计算细胞存活率和半数抑制浓度(IC_{50})。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.3 细胞增殖检测

KYSE150细胞接种于96孔板(每孔 1×10^5 个),分为对照组, GLA高、中、低浓度(80、40、20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)组, GLA(80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) + Colivelin(0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)组, GLA(80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) + baricitini(10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)组,培养24 h后给药,给药后培养24、48、72 h,与10 μL CCK-8溶液混合,2 h后读取450 nm处 A 值并评估细胞活力。

细胞集落形成实验: KYSE150细胞接种于6孔板(每孔 1×10^3 个),培养24 h后给药,给药方式同上,给药后孵育14 d后甲醛固定,结晶紫染色,显微镜拍照并计算细胞克隆数。

2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡

KYSE150细胞接种于6孔板(每孔 2×10^5 个),培养24 h后给药,给药方式同“2.3”项,给药后培养24 h,收集细胞,将 1×10^5 个KYSE150细胞重悬至500 μL 1 $\times$ Annexin V工作液,加5 μL FITC和PI,室温避光20 min,用流式细胞仪对凋亡率进行检测。

2.5 Transwell实验检测细胞侵袭

Transwell板涂基质胶, 1×10^5 个KYSE150细胞接种至无血清培养基,给药方式同“2.3”项,并置于板上腔,下腔加含10%胎牛血清(FBS)培养基,37 °C孵育6 h,固定并染色细胞,最后在显微镜下观察。

2.6 伤口愈合实验检测细胞迁移

KYSE150细胞接种至6孔板(每孔 2×10^5 个)中,培养24 h后给药,给药方式同“2.3”项,给药后培养至密度达95%,使用10 μL 移液器吸头轻划出伤口,在0和24 h时通过显微镜观察,计算细胞迁移率。

$$\text{细胞迁移率} = (0 \text{ h划痕宽度} - 24 \text{ h划痕宽度}) / 0 \text{ h划痕宽度}$$

2.7 Western blotting法检测JAK2/STAT3通路及增殖、迁移蛋白表达

KYSE150细胞接种6孔板(每孔 2×10^5 个),培养24 h后给药,给药方式同“2.3”项,给药后培养24 h。收集细胞, RIPA裂解液提取细胞总蛋白, BCA试剂盒定量,电泳转膜,封闭。与一抗

p-JAK2(1:500)、p-STAT3(1:1 000)、c-MYC(1:500)、Ki67(1:100)、MMP-9(1:5 000)、Bax(1:100)、 β -actin(1:5 000)在4 °C下孵育过夜,与二抗(1:2 000)室温孵育1 h,加发光液,分析蛋白相对表达。

2.8 食管癌裸鼠模型

5×10^6 个KYSE150细胞sc至裸鼠右腋窝,7 d后随机分为模型组、GLA(50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组,每组6只,每天ig给药1次,治疗3周后处死小鼠,分离肿瘤称质量,并计算体积。

2.9 免疫组化染色分析

肿瘤组织固定后石蜡包埋,切片,封闭,加JAK2、STAT3抗体4 °C过夜孵育,加二抗37 °C孵育1 h,通过显微镜观察分析组织中JAK2、STAT3阳性表达。

2.10 统计学处理

SPSS 26.0软件分析数据,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较用单因素方差分析, SNK- q 检验进行两两比较。

3 结果

3.1 GLA降低KYSE150细胞存活率

与对照组比较, GLA 10、20、40、80、160、320 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组KYSE150细胞存活率下降,见图1, IC_{50} 为80.07 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,因此选择80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最高浓度,确定80、40、20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为后续实验高、中、低浓度。

3.2 GLA降低KYSE150细胞活力和细胞克隆能力

与对照组比较, GLA组细胞活力、细胞克隆数显著降低($P < 0.05$);与GLA 80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较,

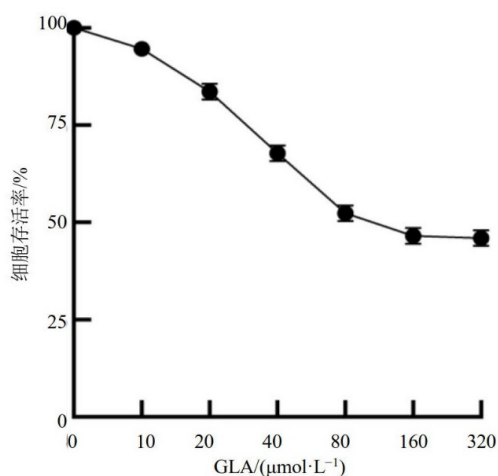


图1 不同浓度GLA干预KYSE150细胞存活率($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 1 Survival rate of KYSE150 cells treated with different concentrations of GLA($\bar{x} \pm s, n=6$)

GLA+Colivelin组细胞活力、细胞克隆数显著升高, H-GLA+baricitini组细胞活力、细胞克隆数显著降低($P<0.05$), 见图2。结果表明 GLA 可抑制 KYSE150 细胞增殖, 且机制与 JAK2/STAT3 通路相关。

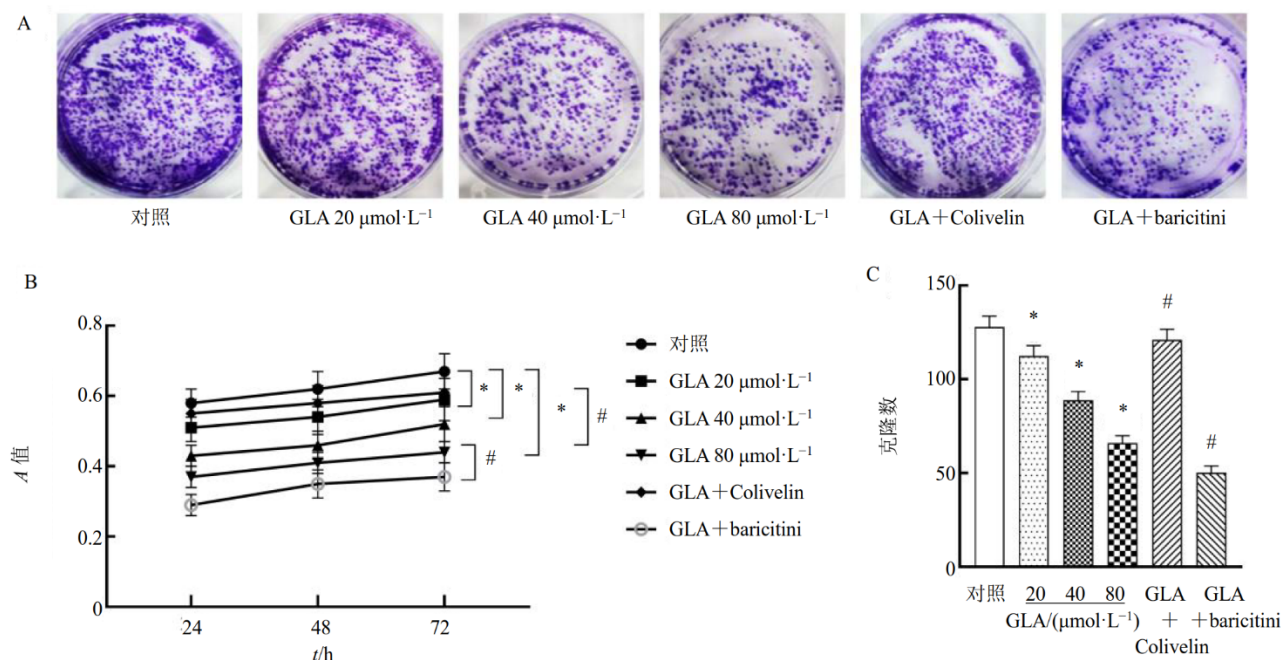
3.3 GLA 促进 KYSE150 细胞凋亡

与对照组比较, GLA 组细胞凋亡率显著升

高($P<0.05$); 与 GLA $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较, GLA+Colivelin 组细胞凋亡率显著降低($P<0.05$), GLA+baricitini 组细胞凋亡率升高($P<0.05$), 见图3。结果表明 GLA 可诱导 KYSE150 细胞凋亡, 且机制与 JAK2/STAT3 通路相关。

3.4 GLA 抑制 KYSE150 细胞侵袭

与对照组比较, GLA 组细胞侵袭数显著降

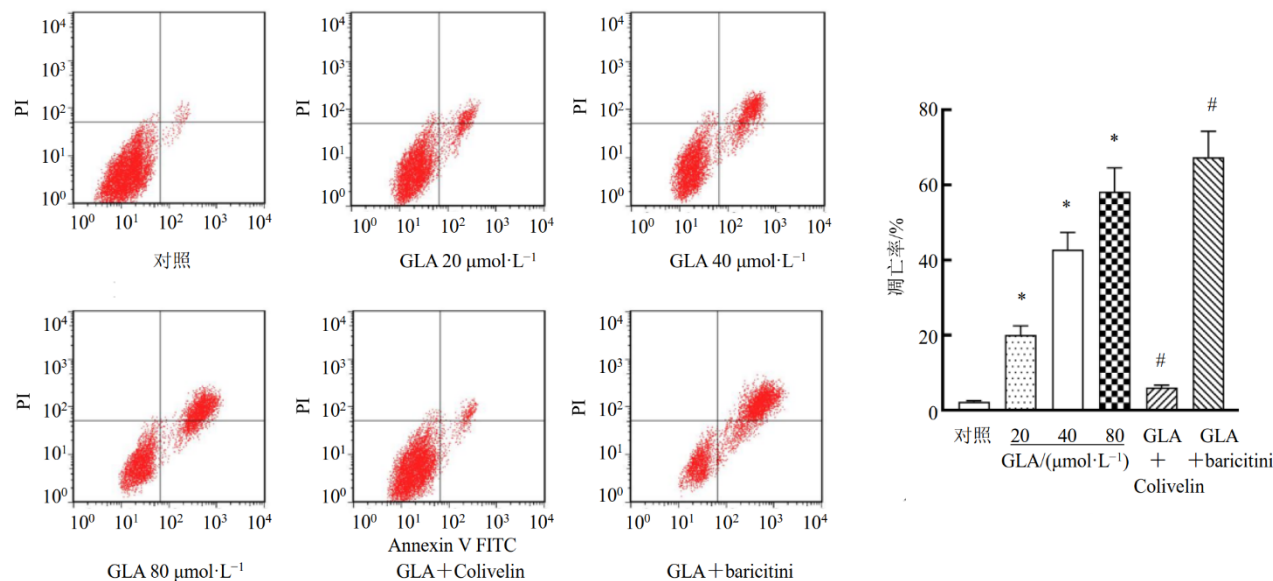


A、C-细胞克隆结果; B-CCK-8 实验结果; 与对照组比较: $^*P<0.05$; 与 GLA $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: $^{\#}P<0.05$ 。

A and C-cell cloning results; B-CCK-8 experimental results; $^*P<0.05$ vs control group; $^{\#}P<0.05$ vs GLA $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

图2 GLA 对 KYSE150 细胞活力和克隆能力的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig. 2 Effect of GLA on viability and cloning ability of KYSE150 cells ($\bar{x}\pm s, n=6$)



与对照组比较: $^*P<0.05$; 与 GLA $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: $^{\#}P<0.05$ 。

$^*P<0.05$ vs control group; $^{\#}P<0.05$ vs GLA $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

图3 GLA 对 KYSE150 细胞凋亡的作用 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig. 3 Effect of GLA on apoptosis of KYSE150 cells ($\bar{x}\pm s, n=6$)

低 ($P < 0.05$) ; 与 GLA $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较, GLA + Colivelin 组细胞侵袭数显著升高 ($P < 0.05$) , GLA + baricitini 组细胞侵袭数显著降低 ($P < 0.05$) , 见图 4。结果表明 GLA 可抑制 KYSE150 细胞侵袭, 且机制与 JAK2/STAT3 通路相关。

3.5 GLA 抑制 KYSE150 细胞迁移

与对照组比较, GLA 组细胞迁移率显著降低 ($P < 0.05$) ; 与 GLA $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较, GLA + Colivelin 组细胞迁移率显著升高 ($P < 0.05$) , GLA + baricitini 组细胞迁移率显著降低 ($P < 0.05$) , 结果见图 5。结果表明 GLA 可抑制 KYSE150 细胞迁移, 且机制与 JAK2/STAT3 通路相关。

3.6 GLA 影响 p-JAK2、p-STAT3、c-MYC、Ki67、MMP-9、Bax 蛋白表达

与对照组比较, GLA 组细胞 Bax 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$) , p-JAK2、p-STAT3、c-MYC、

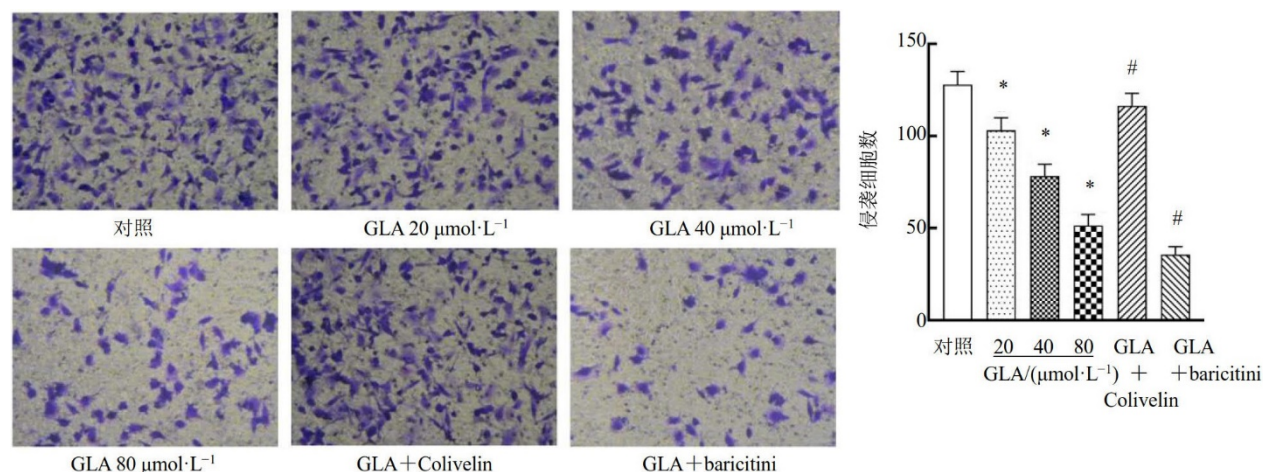
Ki67、MMP-9 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$) ; 与 GLA $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较, GLA + Colivelin 组 p-JAK2、p-STAT3、c-MYC、Ki67、MMP-9 蛋白表达显著升高, Bax 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$) ; GLA + baricitini 组 Bax 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$) , p-JAK2、p-STAT3、c-MYC、Ki67、MMP-9 表达显著降低 ($P < 0.05$) , 见图 6、7。结果表明 GLA 可抑制 KYSE150 细胞 JAK2/STAT3 通路活化并降低增殖、迁移侵袭蛋白表达, 增加凋亡蛋白表达。

3.7 GLA 抑制体内肿瘤生长

与模型组比较, GLA 组肿瘤质量和体积显著降低 ($P < 0.05$) , 见图 8。结果表明 GLA 可抑制体内食管癌细胞生长。

3.8 GLA 减少肿瘤组织中 JAK2、STAT3 阳性表达

与模型组比较, GLA 组 JAK2、STAT3 阳性表达率显著降低 ($P < 0.05$) , 见图 9。结果表明 GLA 能够

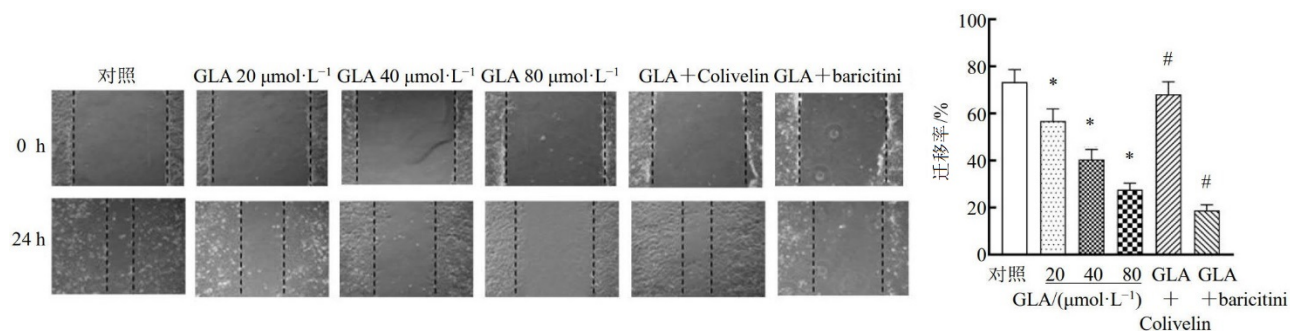


与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 GLA $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs GLA $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group.

图 4 GLA 对 KYSE150 细胞侵袭的作用 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 4 Effect of GLA on invasion of KYSE150 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 GLA $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs GLA $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group.

图 5 GLA 对 KYSE150 细胞迁移的作用 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 5 Effect of GLA on migration of KYSE150 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

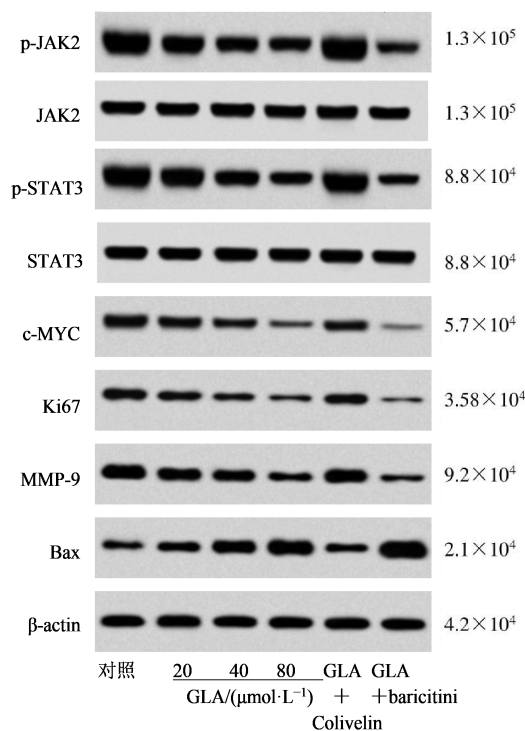


图6 GLA对p-JAK2、p-STAT3、c-MYC、Ki67、MMP-9和Bax蛋白表达的作用

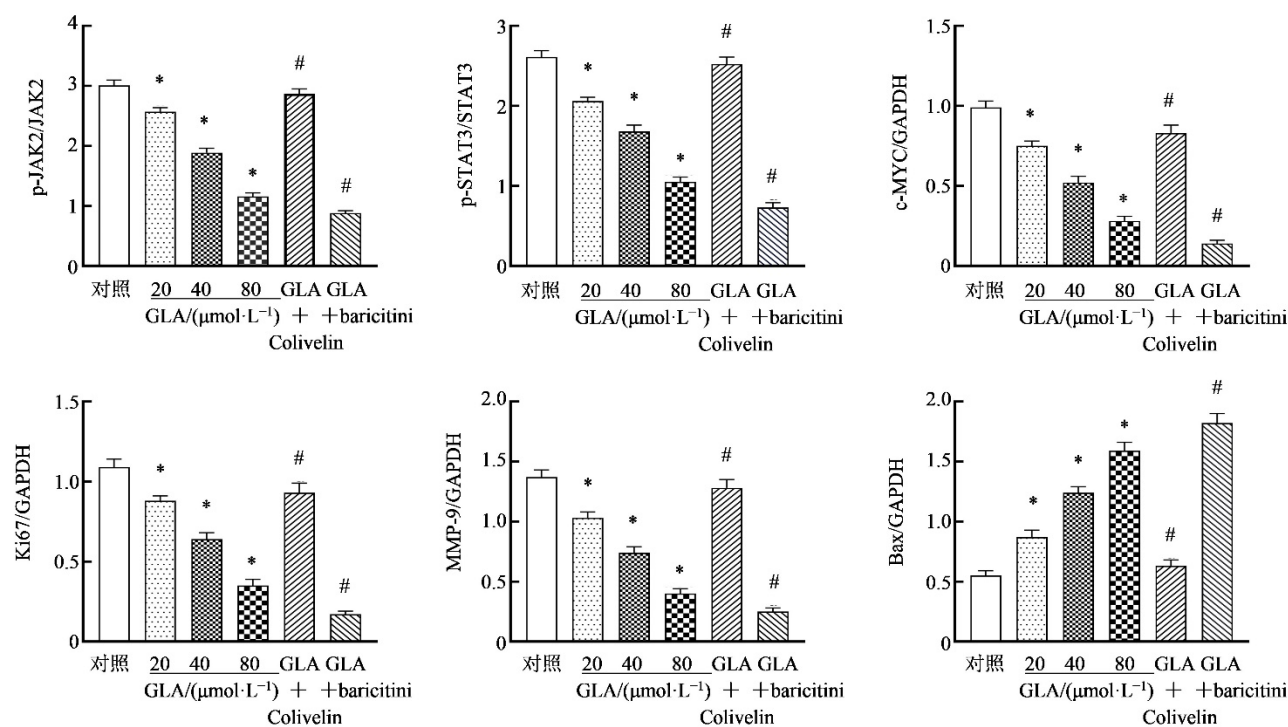
Fig. 6 Effect of GLA on expression of p-JAK2, p-STAT3, c-MYC, Ki67, MMP-9, and Bax proteins

在体内抑制JAK2/STAT3通路激活。

4 讨论

食管癌在发展中国家很常见,且死亡率很高,其主要风险因素包括大量使用酒精和烟草,目前常见治疗方法有局部疾病的内镜切除治疗或手术、转移性疾病的放化疗等,而新药物治疗的开发可能改善转移性食管癌患者的生存结局^[10]。

GLA是甘草中活性类黄酮成分,其能调控促炎及抗炎通路,调节线粒体功能和活性氧(ROS)产生,进而发挥优越的抗炎和抗氧化能力,以及改善代谢失调的作用,有助于治疗多种炎症相关疾病^[11]。曾有研究表明,GLA在肿瘤中具有多种生物活性和治疗作用,其能激活内源性凋亡通路,诱导阻滞细胞周期,并降低细胞活力和迁移活性,在体内外抑制膀胱癌细胞生长^[12]。GLA还能以剂量相关性方式降低乳腺癌细胞活力,增加内质网应激标志物表达,调节线粒体功能,诱导细胞凋亡样死亡,并抑制迁移和侵袭,在乳腺癌等多种癌症中表现出抗肿瘤特性^[13]。Zhang等^[14]研究表明,GLA可调节前列腺癌细胞中ROS水平,调节PI3K/Akt通路,抑制细胞活力,并通过增加Caspase-3活性和凋亡率来促进细



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与GLA 80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs GLA 80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group.

图7 GLA对p-JAK2、p-STAT3、c-MYC、Ki67、MMP-9和Bax蛋白表达量的作用($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 7 Effect of GLA on expression levels of p-JAK2, p-STAT3, c-MYC, Ki67, MMP-9, and Bax proteins ($\bar{x} \pm s, n=6$)

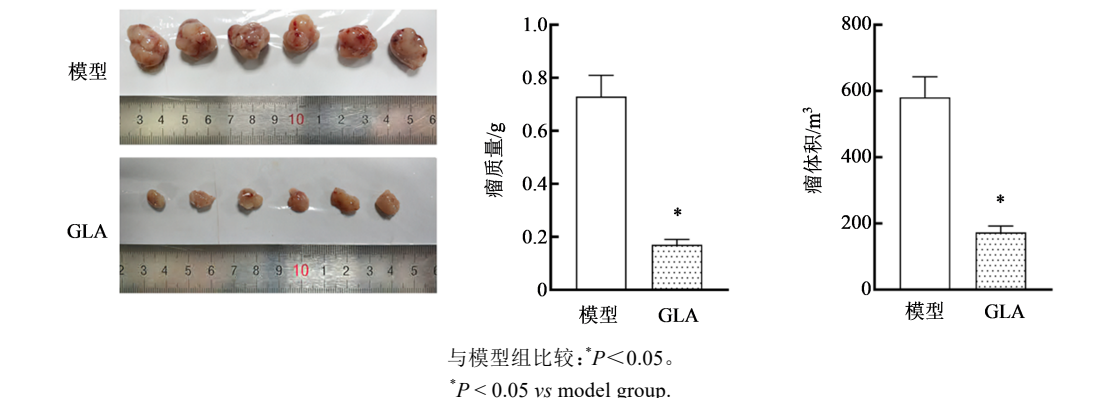


图8 GLA对体内肿瘤生长的作用($\bar{x} \pm s, n=6$)
Fig. 8 Effect of GLA on tumor growth *in vivo* ($\bar{x} \pm s, n=6$)

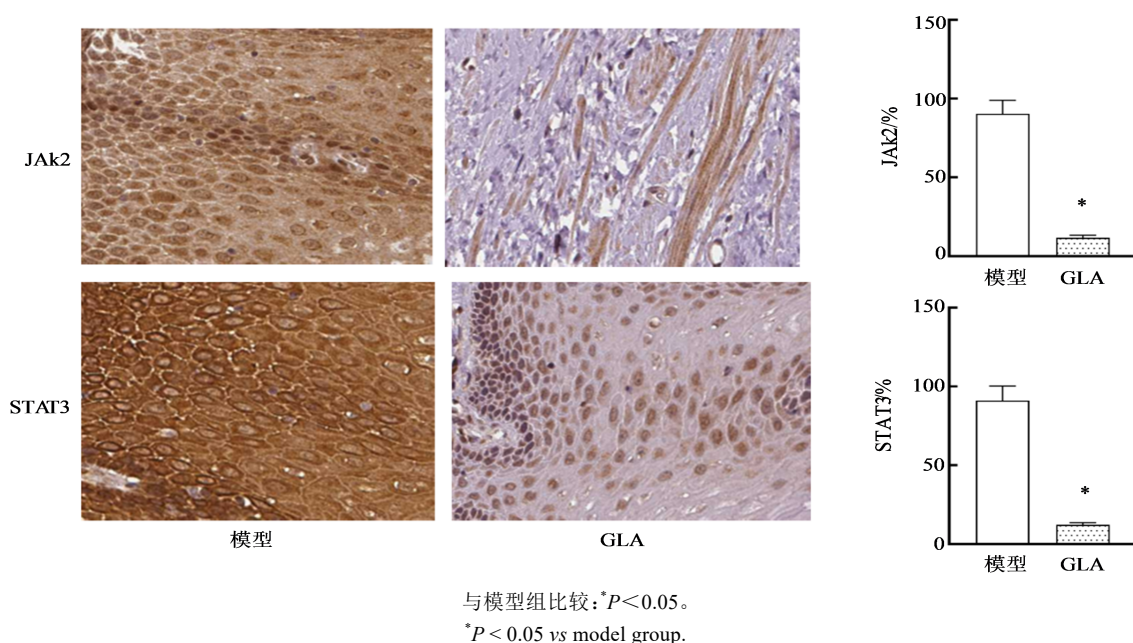


图9 GLA对肿瘤组织JAK2和STAT3的阳性表达的作用($\bar{x} \pm s, n=6, \times 400$)
Fig. 9 Effect of GLA in positive expression of JAK2 and STAT3 in tumor tissues ($\bar{x} \pm s, n=6, \times 400$)

胞死亡,具有很强的抗癌作用。Jamwal等^[15]研究发现, GLA能通过调节EMT标志物表达减弱EMT,并通过升高促凋亡和减少抗凋亡标志物放大紫杉醇在肿瘤组织中的凋亡诱导和抗转移作用。此外, GLA对PI3K/AKT/mTOR通路具有调节作用,其可通过改善线粒体跨膜电位和ROS水平诱导Caspase级联激活和细胞凋亡,还可抑制细胞迁移来减缓EMT,最终抑制乳腺癌生长,且无明显药物毒性,对化疗药物抗癌细胞增殖和促凋亡作用也具有促进效果^[16]。GLA还可以通过PI3K-AKT-mTOR途径影响多种下游效应分子,抑制结肠癌细胞迁移、侵袭和增殖,诱导凋亡,对结肠癌具有显著的疗效,无明显副作用^[17]。然而, GLA在食管癌中的作用目前尚未证实。而本研究发现, GLA可能抑制食管癌细胞增殖、侵袭、迁移,促进凋亡。

本研究进一步分析发现, GLA抑制食管癌发展的作用机制可能与JAK/STAT通路有关。JAK/STAT通路是一个重要的细胞内信号级联,对免疫应答、细胞增殖和分化等许多生理功能至关重要,其失调有助于癌症的进展^[18]。既往报道, SPP1能增加JAK2和STAT3的磷酸化水平,促进DNA损伤的修复和食管癌放疗后肿瘤细胞的存活,增加肿瘤体积,有助于放疗过程中辐射耐药性的发展^[19]。照日格吐等^[20]研究发现, 银杏叶提取物能抑制食管癌发展,其机制与阻断JAK2/STAT3通路有关。还有研究报道^[21], 小檗碱可降低白细胞介素-6(IL-6), 调节JAK/STAT相关通路, 抑制胃癌细胞增殖, 诱导其凋亡和G₀/G₁细胞阻滞, 抑制体外迁移和侵袭, 并抑制体内肿瘤生长。加味阳和汤可导致JAK2/STAT3通路的失活, 降低M2巨噬细胞、Treg及炎症因子的表

达,增加M1巨噬细胞的表达,进而抑制炎症、激活免疫反应并诱导细胞凋亡,以剂量相关的方式显著降低乳腺癌生长^[22]。Xiao等^[23]研究表明,MEX3C可以增加JAK2/STAT3通路的活性,促进肝癌的体外迁移和体内转移,可能与患者预后不良和高死亡率有关。Liu等^[24]研究报道,冬凌草甲素可显著降低磷酸化JAK2和STAT3水平,通过调节EMT相关蛋白表达来阻碍EMT,并抑制血管生成,可显著抑制体外癌细胞迁移和体内异种移植致瘤性。本研究中,经GLA处理细胞的促凋亡蛋白Bax表达升高,p-JAK2、p-STAT3、原癌蛋白c-MYC、增殖标志物Ki67、转移相关蛋白MMP-9表达降低,提示GLA可能抑制JAK/STAT3通路,调节相关蛋白表达,进而抑制食管癌发生和转移。采用JAK2/STAT3通路激活剂Colivelin进一步处理能抵消GLA对食管癌的抑制作用,JAK2抑制剂baricitinib进一步处理能增强GLA对食管癌的抑制作用,证实GLA可能抑制JAK2/STAT3通路,进而抑制食管癌发展。本研究还建立了食管癌小鼠模型,发现GLA处理后小鼠肿瘤质量和体积及JAK2、STAT3阳性表达率降低,提示GLA在体内可能通过JAK2/STAT3通路对食管癌具有抑制作用。

GLA可能抑制JAK2/STAT3通路,进而抑制食管癌细胞增殖、侵袭、迁移,并促进凋亡。但肿瘤的发展机制十分复杂,可能涉及其他通路的参与,还需进一步分析。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Krishnapriya P, Sivanandan C D, Roshni S, et al. Dosimetric comparison of 3DCRT and IMRT in radical chemoradiotherapy of squamous cell carcinoma esophagus [J]. J Cancer Res Ther, 2023, 19(7): 1844-1851.
- [2] Zhang J H, Wu X H, Zhong B Y, et al. Review on the diverse biological effects of glabridin [J]. Drug Des Devel Ther, 2023, 17: 15-37.
- [3] 李德锋,樊金玲,杜琳,等. 光甘草定通过调节ERK/IRS-1和PI3K/Akt信号通路改善HepG2细胞的胰岛素抵抗[J]. 中草药, 2022, 53(24): 7751-7762.
Li D f, Fan J l, Du L, et al. Glabridin ameliorates insulin resistance by regulating ERK/IRS-1 and PI3K/Akt signaling pathways in HepG2 cells [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(24): 7751-7762.
- [3] Su Z B, Liu S Y, Zou Y G, et al. Trastuzumab-induced human cardiomyocyte damage through the Notch2/JAK2/STAT3 pathway [J]. Clinics, 2023, 78: 100268.
- [4] Sadrkhanloo M, Entezari M, Orouei S, et al. STAT3-EMT axis in tumors: Modulation of cancer metastasis, stemness and therapy response [J]. Pharmacol Res, 2022, 182: 106311.
- [5] Li C G, Zhu M L, Zhu J, et al. SOX12 contributes to the activation of the JAK2/STAT3 pathway and malignant transformation of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Oncol Rep, 2021, 45(1): 129-138.
- [6] 殷星,侯永超,杨利姣. 基于JAK2/STAT3信号通路研究银杏内酯B对食管癌细胞增殖及糖酵解水平的影响[J]. 现代消化及介入诊疗, 2023, 28(4): 442-446.
Yin X, Hou Y C, Yang L J. Effect of ginkgolide B on the proliferation and glycolysis level of esophageal cancer cells based on JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. Mod Dig Interv, 2023, 28(4): 442-446.
- [7] Nystrom S E, Li G J, Datta S, et al. JAK inhibitor blocks COVID-19 cytokine-induced JAK/STAT/APOL1 signaling in glomerular cells and podocytopathy in human kidney organoids [J]. JCI Insight, 2022, 7(11): e157432.
- [8] 贺彬丽,李善智,李一权,等. 光甘草定对肺腺癌A549细胞恶性生物学行为的影响及其分子机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2023, 30(8): 672-680.
He B L, Li S Z, Li Y Q, et al. Effects of glabridin on malignant biological behaviors of lung adenocarcinoma A549 cells and its molecular mechanism [J]. Chin J Cancer Biother, 2023, 30(8): 672-680.
- [9] Codipilly D C, Wang K K. Squamous cell carcinoma of the esophagus [J]. Gastroenterol Clin North Am, 2022, 51(3): 457-484.
- [10] Shin J, Choi L S, Jeon H J, et al. Synthetic glabridin derivatives inhibit LPS-induced inflammation via MAPKs and NF- κ B pathways in RAW_{264.7} macrophages [J]. Molecules, 2023, 28(5): 2135.
- [11] Yang Z, Bi Y, Xu W K, et al. Glabridin inhibits urothelial bladder carcinoma cell growth *in vitro* and *in vivo* by inducing cell apoptosis and cell cycle arrest [J]. Chem Biol Drug Des, 2023, 101(3): 581-592.
- [12] Cui X, Cui M. Glabridin induces paraptosis-like cell death via ER stress in breast cancer cells [J]. Heliyon, 2022, 8(9): e10607.
- [13] Zhang F Y, Wang F F, Li W J, et al. The toxicity mechanism of glabridin in prostate cancer cells is involved in reactive oxygen species-dependent PI3K/Akt pathway: Integrated utilization of bioinformatic analysis and *in vitro* test validation [J]. Environ Toxicol, 2022, 37(12): 2937-2946.

- [14] Jamwal A, Chand J, Dash A, et al. Glabridin plays dual action to intensify anti-metastatic potential of paclitaxel via impeding CYP2C8 in liver and CYP2J2/EETs in tumor of an orthotopic mouse model of breast cancer [J]. Chem Biol Interact, 2023, 382: 110605.
- [15] Lin H Y, Ai D X, Liu Q Q, et al. Natural isoflavone glabridin targets PI3K γ as an adjuvant to increase the sensitivity of MDA-MB-231 to tamoxifen and DU145 to paclitaxel [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2024, 236: 106426.
- [16] Li T T, Li H, Xia W X, et al. Investigation of the effects of glabridin on the proliferation, apoptosis, and migration of the human colon cancer cell lines SW480 and SW620 and its mechanism based on reverse virtual screening and proteomics [J]. Oxid Med Cell Longev, 2023, 2023: 1117431.
- [17] Kohal R, Bisht P, Gupta G D, et al. Targeting JAK2/STAT3 for the treatment of cancer: A review on recent advancements in molecular development using structural analysis and SAR investigations [J]. Bioorg Chem, 2024, 143: 107095.
- [18] Wang M J, Sun X Z, Xin H X, et al. SPP1 promotes radiation resistance through JAK2/STAT3 pathway in esophageal carcinoma [J]. Cancer Med, 2022, 11(23): 4526-4543.
- [19] 照日格吐, 孙志刚, 焦杰, 等. 银杏叶提取物通过 JAK2/STAT3 信号通路调控食管癌细胞 EC9706 增殖、凋亡、侵袭、迁移的研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(13): 56-62.
- Zhao R, Sun Z G, Jiao J, et al. *Ginkgo biloba* extract regulates the proliferation, apoptosis, invasion and migration of esophageal cancer cell EC9706 through JAK2/STAT3 signaling pathway and its clinical significance [J]. China J Mod Med, 2022, 32(13): 56-62.
- [20] Xu M M, Ren L, Fan J H, et al. Berberine inhibits gastric cancer development and progression by regulating the JAK2/STAT3 pathway and downregulating IL-6 [J]. Life Sci, 2022, 290: 120266.
- [21] You Y T, Chen X M, Chen X H, et al. Jiawei Yanghe Decoction suppresses breast cancer by regulating immune responses via JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 316: 116358.
- [22] Xiao Y Y, Li Y, Shi D N, et al. MEX3C-mediated decay of SOCS3 mRNA promotes JAK2/STAT3 signaling to facilitate metastasis in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res, 2022, 82(22): 4191-4205.
- [23] Liu W, Wang X D, Wang L, et al. Oridonin represses epithelial-mesenchymal transition and angiogenesis of thyroid cancer via downregulating JAK2/STAT3 signaling [J]. Int J Med Sci, 2022, 19(6): 965-974.

[责任编辑 兰新新]