

基于网络药理学、分子对接与实验验证探讨石蒜碱抗脑膜瘤作用机制

舒倩颖¹, 万心怡², 朱小强¹, 董政¹, 孙伟光², 毕晓宾^{2*}, 雷亮^{1*}

1. 武汉市第四医院, 湖北省运动医学中心, 湖北省骨科临床医学研究中心, 运动损伤与精准治疗湖北省重点实验室, 湖北武汉 430033

2. 华中科技大学药学院, 湖北武汉 430030

摘要: **目的** 采用网络药理学结合细胞学实验方法, 初步探讨石蒜碱抗脑膜瘤的作用及潜在分子机制。 **方法** 通过 PubChem 获取石蒜碱结构信息, 联合 Pharmmapper、SwissTargetPrediction、Similarity Ensemble Approach (SEA) 及 CTD 数据库预测药物潜在靶点; 并整合 GeneCards、OMIM 与 CTD 数据库获取脑膜瘤相关靶点, 采用 Venny 构建交集靶点, 利用 STRING/Cytoscape 进行蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络拓扑分析, 基于度 (Degree) 值、介数中心性 (BC) 和紧密中心性 (CC) 联合筛选核心靶点, 进一步开展基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析和分子对接验证。随后采用体外实验评估石蒜碱对脑膜瘤 CH157 细胞增殖、克隆形成、侵袭、周期和凋亡的影响, 并通过 Western blotting 检测 Wnt/ β -Catenin 及磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 通路相关蛋白表达; 最后通过 LiCl 回补实验验证 Wnt/ β -catenin 通路的作用。 **结果** 网络药理学结果显示, 石蒜碱与脑膜瘤共有 36 个交集靶点, 核心潜在靶点包括 AKT1、转化生长因子- β 1 (TGFB1)、信号转导及转录激活蛋白 3 (STAT3)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、非受体酪氨酸蛋白激酶 (SRC) 和糖原合成激酶 3 β (GSK3B), 富集通路涉及 PI3K-Akt、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、癌症相关通路及细胞凋亡/迁移相关生物过程。体外实验显示, 石蒜碱可显著抑制 CH157 细胞增殖、集落形成、迁移及侵袭, 诱导细胞凋亡并影响细胞周期; Western blotting 结果提示石蒜碱可抑制 Wnt/ β -Catenin 及 PI3K/Akt 信号活化。 **结论** 石蒜碱可能通过多靶点、多通路协同作用发挥抗脑膜瘤活性, 其中 Wnt/ β -Catenin 与 PI3K/Akt 信号通路可能是其重要作用环节。

关键词: 石蒜碱; 脑膜瘤; Wnt/ β -catenin 通路; PI3K/Akt 通路; 网络药理学; 细胞增殖; 细胞凋亡

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)08-2741-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.08.011

Exploring mechanism of lycorine in anti-meningioma based on network pharmacology and experimental validation

SHU Qianying¹, WAN Xinyi², ZHU Xiaoqiang¹, DONG Zheng¹, SUN Weiguang², BI Xiaobin², LEI Liang¹

1. Hubei Key Laboratory of Sports Injury and Precision Therapy, Hubei Provincial Clinical Research Center for Orthopedics, Hubei Provincial Sports Medicine Center, Wuhan Fourth Hospital, Wuhan 430033, China

2. School of Pharmacy, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract: **Objective** To preliminarily explore the anti-meningioma effect and potential molecular mechanism of lycorine by integrating network pharmacology with cytological experiments. **Methods** The potential targets of lycorine were predicted using Pharmmapper, SwissTargetPrediction, SEA and CTD databases, while meningioma-related targets were collected from GeneCards, OMIM and CTD. Intersecting targets were analyzed by Venny, STRING and Cytoscape, followed by GO/KEGG enrichment analysis and molecular docking. *In vitro* assays were performed to evaluate the effects of lycorine on proliferation, colony formation, invasion, cell cycle progression and apoptosis of CH157 cells. Western blotting was further used to detect Wnt/ β -catenin- and PI3K/Akt-related proteins, and LiCl rescue experiments were performed to validate the role of Wnt/ β -catenin signaling. **Results** A total of 36 intersecting targets were obtained, and AKT1, TGFB1, STAT3, MMP9, SRC and GSK3B were identified as core targets. These targets

收稿日期: 2026-02-26

基金项目: 武汉市卫生健康委员会面上项目 (WZ24A09); 国家自然科学基金委青年项目 (32000282)

作者简介: 舒倩颖 (1993—), 女, 本科生, 主要从事肿瘤药物治疗与发病机制研究。E-mail: 294232254@qq.com

*通信作者: 雷亮, 男, 助理研究员, 从事中药药效物质基础及作用机制研究。E-mail: leiliang@hust.edu.cn

毕晓宾, 女, 工程师, 从事天然产物化学成分及生物活性研究。E-mail: bxb@hust.edu.cn

were enriched in PI3K-Akt, MAPK and cancer-related pathways. Experimental results showed that lycorine significantly inhibited malignant phenotypes of CH157 cells and promoted apoptosis. Western blotting indicated that lycorine suppressed activation of Wnt/ β -catenin and PI3K/Akt signaling. **Conclusion** Lycorine may exert anti-meningioma activity through multi-target and multi-pathway regulation, with Wnt/ β -catenin and PI3K/Akt pathways serving as important mechanistic links.

Key words: lycorine; meningioma; Wnt/ β -catenin pathway; PI3K/Akt pathway; network pharmacology; cell proliferation; cell apoptosis

脑膜瘤是颅内常见的肿瘤,具有较高的致残率和致死率,且发病率呈逐年上升趋势^[1]。该疾病发病机制尚未完全明确,现有研究表明,电离辐射、家族遗传、肥胖及生活习惯均与该病发生密切相关^[2-4]。手术和放疗是脑膜瘤的主要治疗手段,但存在高复发率、治疗抵抗、预后不佳等缺点^[5];而药物治疗以单克隆抗体药物为主,存在个体化差异大、不良反应大和严重耐药等问题^[6]。因此,探索脑膜瘤的发病机制和寻找疗效确切的新型抗脑膜瘤治疗药物十分必要。

石蒜碱是从石蒜科植物中分离的天然生物碱,具有丰富的药理活性,其不仅可通过调控机体免疫应答及病原体代谢,发挥抗炎、抗病毒、抗菌及抗寄生虫等作用,还能调控肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭等关键生物学过程,展现出多种抗肿瘤活性,在肺癌、肝癌、胰腺癌、卵巢癌以及直肠癌等多种恶性肿瘤研究中已证实其抑制肿瘤进展的作用^[7-9]。然而,石蒜碱对脑膜瘤的干预效果及潜在分子机制尚未见报道。

本研究前期通过天然产物抗肿瘤活性高通量筛选发现,石蒜碱对人源脑膜瘤细胞 CH157 有明显抑制作用^[10]。已有研究证实 Wnt/ β -连环蛋白通路(Wnt/ β -catenin)信号通路的异常激活是脑膜瘤发生发展的关键分子机制之一^[11-12],推测石蒜碱可能通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路发挥作用。因此,本研究以 CH157 脑膜瘤细胞为研究对象,结合网络药理学等技术,系统探讨石蒜碱对肿瘤细胞增殖、凋亡、迁移及侵袭能力的影响,并聚焦 Wnt/ β -catenin 信号通路解析其作用机制,旨在为脑膜瘤的药物治疗提供新的实验依据。

1 材料

1.1 细胞

人源脑膜瘤细胞 CH157(上海雅吉生物科技有限公司,货号 YS5364C)、人源前列腺癌细胞 C4-2B(武汉尚恩生物技术有限公司,货号 SNL-161);人源非小细胞肺癌 A549 和人源胰腺腺癌细胞 BXPC-3 细胞(武汉普诺赛生命科技有限公司,货号 CL-

0016、CL-0042)。

1.2 试剂

石蒜碱(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,质量分数 $\geq 98\%$,货号 L424142);氯化锂(LiCl,美国 MedChemexpress 生物科技公司,质量分数 $\geq 97\%$,货号 HY-Y0649);AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒、DAPI 即用型染液(上海碧云天凯基生物科技有限公司,货号 C1062S、C1005);CCK-8 细胞增殖检测试剂盒(索莱宝生物科技有限公司,货号 CA1210);PARP、B 细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)、Bax(正能生物科技有限公司,货号 R382828、R381702、R22768); β -catenin、c-myc、糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)、 β -actin、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)、p-Akt、GAPDH 一抗(美国 CST 公司,货号 8480T、9402S、9315T、4967S、4257、4691、4058、2118);p-PI3K 一抗购自艾比玛特医药科技公司,货号 T40116F。

1.3 仪器

Varioskan LUX 多功能酶标仪(Thermo Fisher Scientific);OLYMPUS IX73 倒置荧光显微镜(Olympus Corporation);CLM-170B-8-CN 细胞培养箱(太仓艺斯高医疗器械科技有限公司);Odyssey CLXLI-COR 红外激光成像系统(美国 LI-COR 公司);BD Acurri C6 流式细胞仪(美国 BD 公司)。

2 方法

2.1 网络药理学分析^[13]

在网络药理学分析中,首先通过 PubChem 数据库获取石蒜碱的 SMILES 结构信息,采用 Pharmmapper、SwissTargetPrediction、Similarity Ensemble Approach(SEA)和 Comparative Toxicogenomics Database(CTD)平台预测其潜在作用靶点。随后在 GeneCards、OMIM 和 CTD 数据库中以关键词“meningioma”检索脑膜瘤相关靶点;其中 GeneCards 检索所得靶点按 Relevance score 进行筛选,去除相关性较低靶点后,与 OMIM 和 CTD 数据库结果合并去重,得到疾病相关靶点。将石蒜碱靶点与脑膜瘤疾病靶点导入 Venny 2.1.0 获取成

分-疾病交集靶点并构建 Venn 图。利用 DAVID 数据库对交集靶点进行基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析, 并通过微生信平台进行可视化。通过 STRING 数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络, 物种限定为 *Homo sapiens*, 采用 Cytoscape 3.10.1 对网络进行拓扑分析, 综合度 (Degree) 值、介数中心性 (BC) 和接近中心性 (CC) 等参数筛选核心靶点。最后, 从 PubChem 下载石蒜碱结构, 从 PDB 数据库下载核心靶点蛋白结构, 并采用 CB-Dock2 进行盲对接分析, 以评价石蒜碱与核心靶点的潜在结合能力。

2.2 实验验证

2.2.1 细胞培养及 CCK-8 法检测石蒜碱细胞毒活性 CH157 等细胞于含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素溶液的高糖 DMEM 培养基中, 5% CO₂、37 °C 恒温培养箱中培养, 待其融合度达到 80%~90%, 用 0.25% 胰酶消化, 维持细胞处于对数生长期。

将对数生长期的 CH157 等细胞按照每孔 5×10^3 的密度接种于 96 孔板, 使用不同浓度 (0、1.25、2.50、5.00、10.00、20.00、40.00 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的石蒜碱处理 24 h, 每组 5 个复孔。处理时间结束后, 在每孔中加入 CCK-8 溶液 10 μL , 避光孵育 2 h, 荧光酶标仪 (波长 450 nm) 测定每孔吸光度 (A) 值。计算其细胞存活率, 拟合石蒜碱对不同细胞半数抑制浓度 (IC₅₀) 值。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{药物干预}} / A_{\text{对照}}$$

2.2.2 平板克隆法检测石蒜碱对 CH157 细胞克隆形成的影响 将对数生长期的 CH157 细胞按每孔 100 个的密度接种于 6 孔板中, 给予 2.5、5.0、10.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度的石蒜碱处理, 37 °C 恒温培养 21 d, 48 h 换液 1 次。弃去上清液, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤 3 次, 4% 甲醇室温固定 30 min, 0.1% 结晶紫染色 30 min, 冲去多余染料, 晾干后光学显微镜下观察各组形成的细胞集落。

2.2.3 Transwell 小室检测石蒜碱对 CH157 细胞侵袭的影响 将每孔 6×10^4 个的 CH157 细胞接种在预铺 Matrigel 基质胶的 Transwell 小室上室, 细胞分组给药同“2.2.2”项, 将细胞下室加入细胞完全培养基, 继续培养 48 h, 加入多聚甲醛固定液 30 min 后, 漂洗 3 次, 再加入结晶紫溶液染色 30 min, 避光孵育后, 显微镜下观察, 统计穿过细胞的数量。

2.2.4 石蒜碱对 CH157 细胞周期和凋亡的影响 如“2.2.2”项分组, 将处理 24 h 后的 CH157 细胞进

行 PBS 洗涤后制为单细胞悬液, 计数后每组取约 5×10^5 个细胞加入 500 μL 结合缓冲液进行重悬, 加入 AnnexinV-FITC (5 μL) 和 PI (2.5 μL), 避光下进行双染 (37 °C、10 min), 流式上机后采用流式细胞仪测定各组细胞凋亡率。同法操作后, 将处理后的 CH157 细胞进行 PBS 洗涤加入 4% 甲醇溶液固定 30 min, DAPI 染色 15 min, PBS 洗涤去除多余染液, 通过倒置荧光显微镜观察细胞形态。

如“2.2.2”项分组, 将处理 24 h 后的 CH157 细胞进行 PBS 洗涤后制为单细胞悬液, 使用细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒检测细胞有丝分裂情况。PBS 洗涤后常规消化, 离心收集细胞, 加入预冷 70% 乙醇固定细胞, 4 °C 过夜, 次日反复漂洗离心去除固定液, 加 RNaseA 染液避光 37 °C 培养 30 min, 继续加入 Propidium Iodide 混匀, 4 °C 避光孵育 30 min, 通过流式细胞仪检测肿瘤细胞有丝分裂周期的变化。

2.2.5 石蒜碱对 CH157 细胞 Wnt/ β -Catenin 及 PI3K/Akt 信号通路的影响 取对数生长期的 CH157 细胞, 以每孔 1×10^6 个细胞的密度接种于 6 孔板中, 分组如“2.2.2”项。收集并提取各组细胞蛋白, 用 BCA 法测定蛋白质浓度, 95 °C 加热变形, SDS-PAGE 凝胶电泳分离等量细胞蛋白样品, 将其转到 PVDF 膜上用 5% 的脱脂奶粉室温下封闭 1 h 后, 一抗 (1:1 000) 4 °C 孵育过夜, 二抗室温下孵育 1.5 h (1:20 000)。用 ECL 法检测蛋白, 成像分析仪扫描并拍照, β -actin 与 GAPDH 用 Image J 分析软件进行分析蛋白相对表达量。

2.2.6 石蒜碱联合 LiCl 对 CH157 细胞活力的影响 将 CH157 细胞按照每孔 1×10^5 的密度接种于 96 孔板, 24 h 后给予 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的石蒜碱, 加入同时 LiCl (2.5、5.0、10.0、25.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液。给药 48 h 后, 在每孔中加入 CCK-8 溶液 10 μL , 避光孵育 2 h, 荧光酶标仪 (波长 450 nm) 测定每孔 A 值, 计算细胞存活率。

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

2.3 统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据统计分析均使用 Graphpad Prism 8.0 软件作图, 方差齐性检验后, 组间差异均使用单因素分析法比较分析。

3 结果

3.1 网络药理学预测石蒜碱抗脑膜瘤潜在作用靶点 筛选得到 145 个石蒜碱作用靶点和 2 451 个脑膜瘤疾病靶点, 构建石蒜碱抗脑膜瘤潜在靶点 Venn 图 (图 1), 获得 36 个交集靶点。为进一步分析交

集靶点间的 PPI 关系, 针对人类 (Homo sapiens) 物种构建 PPI 网络, 并导入 Cytoscape 3.10.1 进行拓扑分析, 共得到 32 个有效节点和 134 条相互作用连线, 且无孤立节点, 形成完整连通网络。通过 Degree 值、BC 和 CC 等核心拓扑参数联合分析, 该网络节点平均 Degree 值为 8.375、平均 BC 值为 0.030 5、平均 CC 值为 0.542 1, 提示整体信息传递效率较高、局部模块连接较紧密。共筛选出 6 个核心靶点, 按 Degree 值降序依次为 AKT1、TGFB1、STAT3、MMP9、SRC 和 GSK3B。其中 AKT1 的 3 项核心拓扑参数均为全网最高, 是 PPI 网络的核心调控节点; TGFB1、STAT3 和 MMP9 为第 2 层级核心节点, SRC 和 GSK3B 则是网络中的关键功能节点与潜在干预靶点, 见图 2。

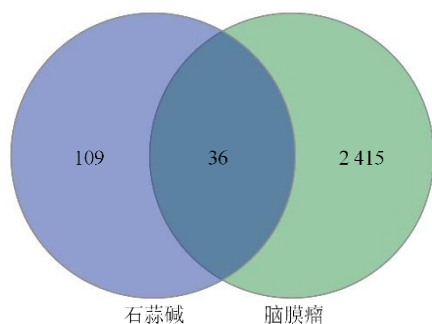


图 1 石蒜碱与脑膜瘤作用靶点的 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of lycorine and meningiomas interaction targets

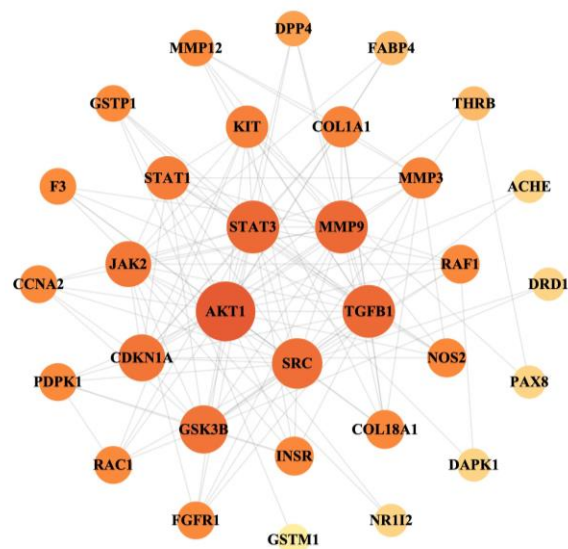


图 2 石蒜碱与脑膜瘤疾病作用靶点 PPI 网络

Fig. 2 PPI network of targets of action of lycorine and meningiomas

3.2 核心靶点 GO 和 KEGG 富集分析

利用 DAVID 数据库对 36 个交集靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 富集结果 (图 3) 显示, 生物过程 (BP) 主要富集于蛋白质自磷酸化、蛋白质核定位、肽类激素反应及外源性凋亡信号通路, 同时涉及上皮细胞迁移、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性调控等过程; 细胞组分 (CC) 主要定

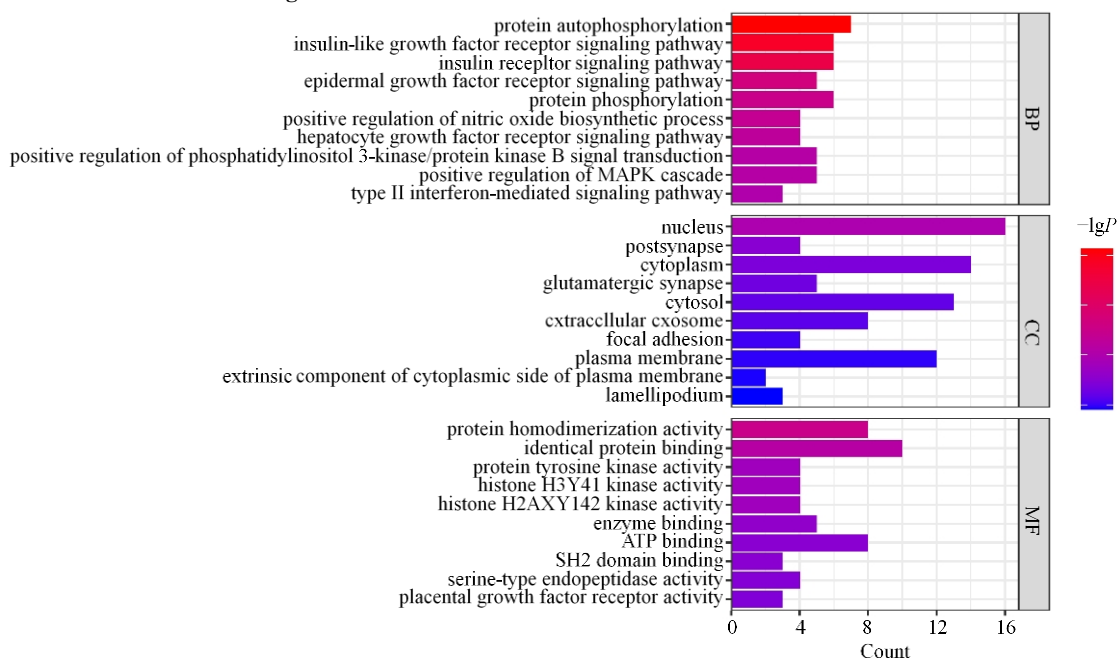


图 3 GO 功能富集分析图

Fig. 3 GO functional enrichment analysis

位于质膜胞质侧、膜胞质侧及质膜固有组分,并富集黏着斑、蛋白激酶复合物;分子功能(MF)主要涉及丝氨酸水解酶活性、跨膜受体蛋白酪氨酸激酶活性和蛋白酶结合,与 AKT1、SRC 等核心激酶靶点功能高度匹配。KEGG 通路富集分析显示,靶点显著富集于癌症中的蛋白聚糖、AGE-RAGE 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 相关通路及多种肿瘤相关通路。其中 PI3K-Akt 信号通路与核心靶点 AKT1 直接相关,提示其可能是石蒜碱干预脑膜瘤细胞恶性表型的重要通路之一。见图 4。

3.3 石蒜碱-核心靶点分子对接分析

为进一步验证核心靶点与石蒜碱的潜在相互

作用,采用分子对接方法计算二者结合能,并进行三维可视化分析,见图 5。结果显示,所选核心靶点与石蒜碱的结合能均小于 $-20.9\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$,提示石蒜碱与核心靶点具有一定稳定结合潜力。其中 JAK2 与石蒜碱的结合能最低($-36.784\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), AKT1、MMP9 和 STAT1 的结合能分别为 -27.588 、 -30.932 、 $-29.678\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。该结果从分子层面支持网络药理学预测所得关键靶点的合理性。

网络药理学避免了仅依赖单一预测平台或单一 Degree 指标筛选核心靶点的局限,进一步支持石蒜碱可能通过 AKT1、STAT3、MMP9、SRC、GSK3B 等多靶点影响 PI3K-Akt、MAPK 及 Wnt/ β -Catenin 相关信号网络。

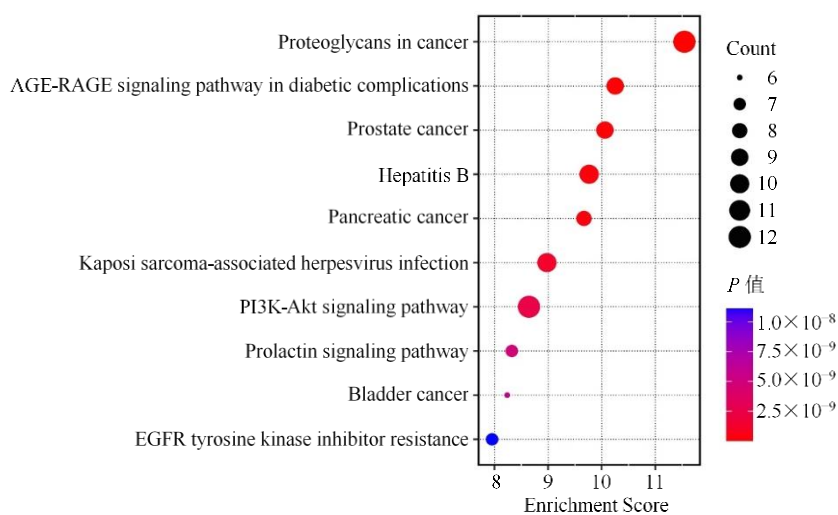


图 4 KEGG 富集分析气泡图

Fig. 4 KEGG enrichment analysis bubble plot

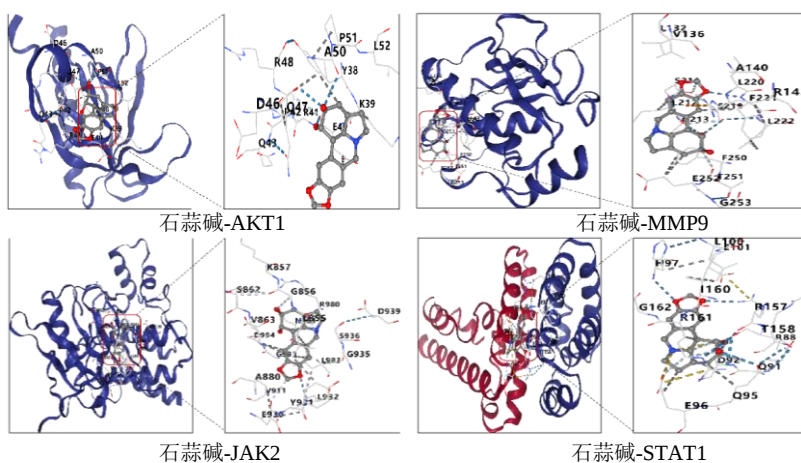


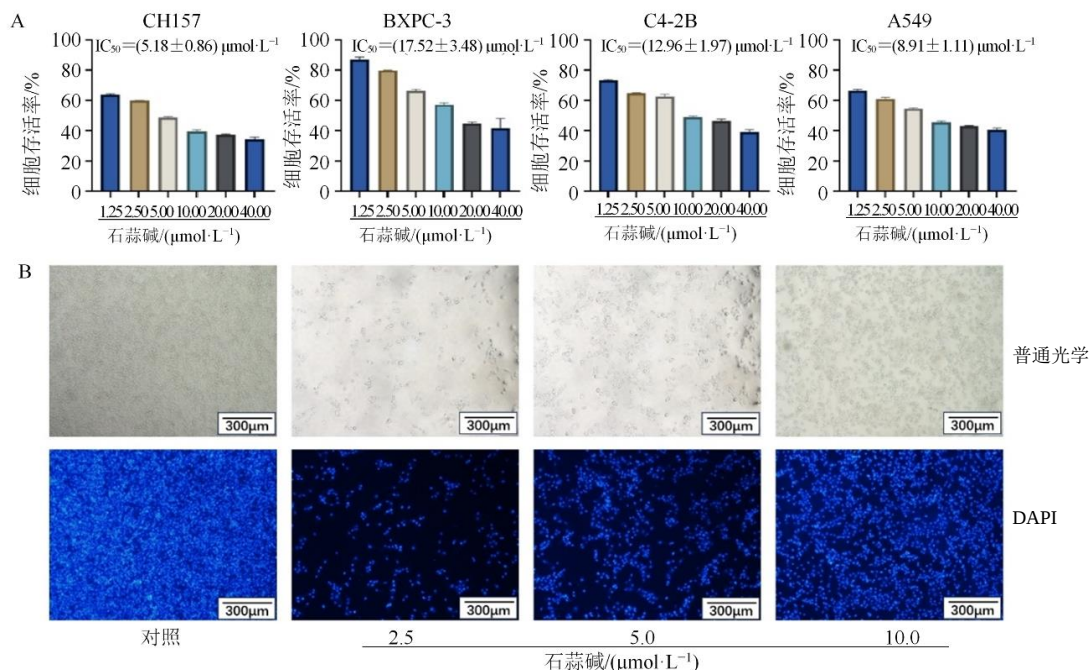
图 5 分子对接可视化结果

Fig. 5 Visualization results of molecular docking

3.4 石蒜碱对脑膜瘤 CH157 细胞具有显著的细胞毒活性

对 4 种常见肿瘤细胞 (CH157、C4-2B、A549 及 BXP-3) 的细胞毒活性筛选结果显示, 石蒜碱对人脑膜瘤 CH157 细胞表现出显著的剂量相关性抑

制作用, 其 IC_{50} 值为 $(5.18 \pm 0.86) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 6-A), 因此后续实验选用 2.5、5.0、10.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为石蒜碱的干预浓度。DAPI 染色结果显示, 经石蒜碱处理的 CH157 细胞荧光强度显著降低, 细胞核出现皱缩等形态学改变, 且细胞数量明显减少 (图 6-B)。



A-石蒜碱对 4 种肿瘤细胞株的细胞毒活性; B-不同浓度石蒜碱对 CH157 细胞活性的抑制作用。

A-Cytotoxic activity of lycorine on four tumor cell lines; B-inhibitory effect of lycorine at different concentrations on CH157 cell activity.

图 6 石蒜碱的体外抗肿瘤活性及其对 CH157 细胞的抑制作用 ($\times 100$)

Fig. 6 *In vitro* antitumor activity of lycorine and its inhibitory effect on CH157 cells ($\times 100$)

3.5 石蒜碱对 CH157 细胞增殖和侵袭能力的影响

在平板克隆实验中, 与对照组比较, 2.5、5.0、10.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 石蒜碱组的集落形成能力受到显著抑制。同时, 随着石蒜碱的浓度增加, 细胞克隆数目

下降越显著, 呈浓度相关性。Transwell 小室染色检测结果显示, 与对照组相比, 随着石蒜碱浓度的增加, 侵袭至小室下膜的 CH157 细胞数量明显减少, 其中以 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度抑制作用最为显著。见图 7。

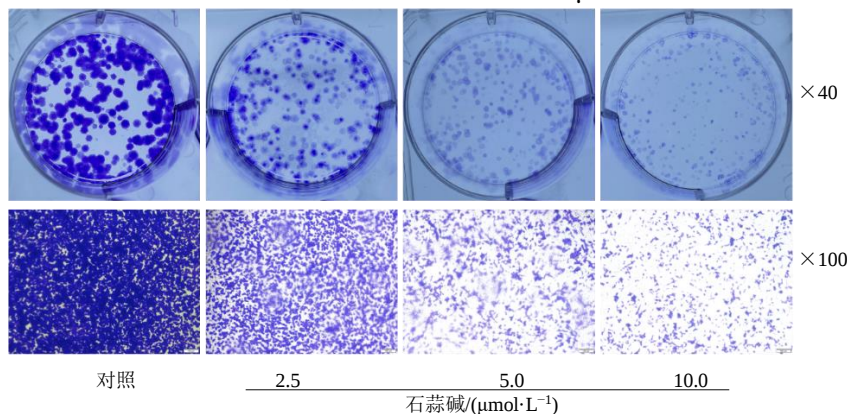


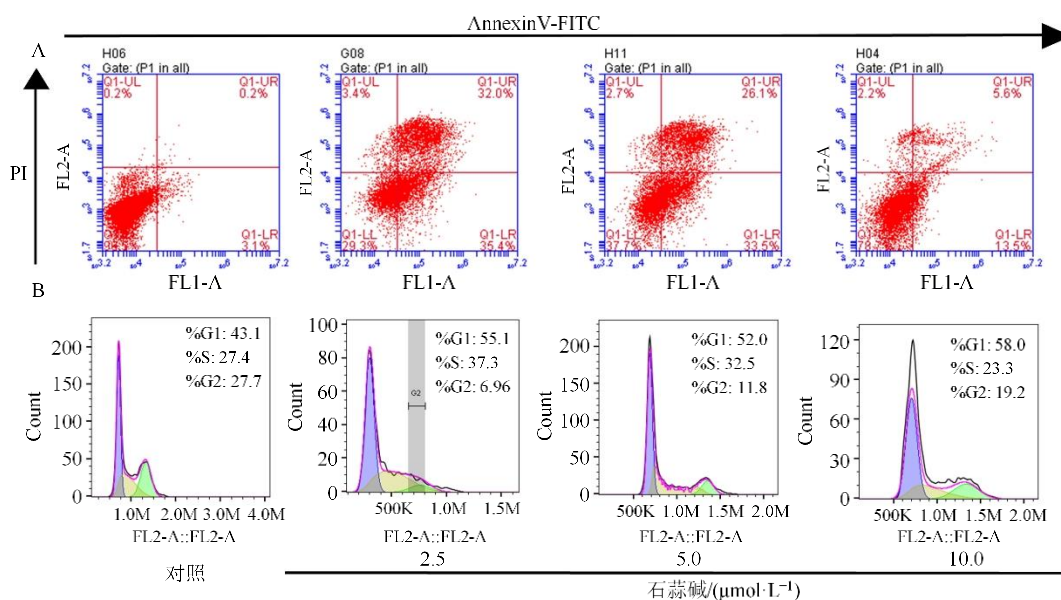
图 7 石蒜碱抑制肿瘤细胞克隆形成与细胞侵袭能力的检测结果

Fig. 7 Test results of lycorine inhibiting tumor cell clonogenicity and cell invasion ability

3.6 石蒜碱对 CH157 细胞周期和凋亡的影响

AnnexinV-FITC/PI 双染法检测结果显示,与对照组相比,CH157 细胞石蒜碱处理组中早调细胞和晚调细胞数量分别上升至 19.1%、59.6%、67.4%,如图 8-A 所示;此外,阻滞癌细胞有丝分裂是抗肿瘤药物发挥抗癌作用的重要机制之一,如图 8-B 所示,石蒜碱处理组中被阻滞在 G_1 期的细胞数量从对照组的 43.1% 分别上升至 52.0%、55.1%、58.0%,上述结果说明石蒜碱能够影响肿瘤细胞的周期分

布,将细胞有丝分裂周期阻滞于 G_1 期,且阻滞效果随给药浓度增加而提升;同时,Western blotting 检测结果(图 9)显示,与对照组相比,PARP、Bcl-2 的蛋白表达水平均出现下调,而 Bax 蛋白表达水平则呈上调趋势,这些结果进一步证实石蒜碱能够调控癌细胞内凋亡相关蛋白的表达水平,进而可能通过该机制诱导肿瘤细胞发生凋亡。综上,所有实验结果均表明,石蒜碱能够有效诱导癌细胞凋亡,且诱导效果与给药浓度存在显著相关性。



A-细胞周期与凋亡检测试剂盒分析石蒜碱阻断癌细胞有丝分裂的能力; B-AnnexinV-FITC/PI 双染色检测分析石蒜碱诱导肿瘤细胞凋亡。

A-capacity of lycorine to block mitosis in cancer cells was analyzed using cell cycle and apoptosis detection kits; B-Annexin V-FITC/PI double staining was applied to determine lycorine-triggered tumor cell apoptosis.

图 8 流式细胞术检测石蒜碱对肿瘤细胞周期阻滞及细胞凋亡的诱导作用

Fig. 8 Flow cytometry detect induction effect of lycorine on tumor cell cycle arrest and apoptosis

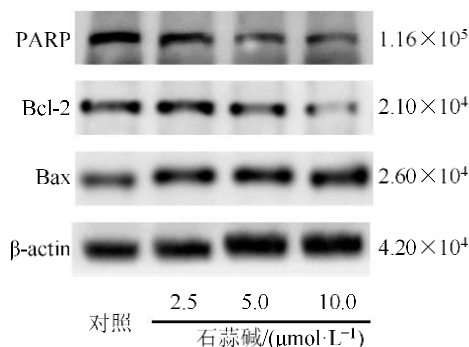


图 9 Western blotting 检测石蒜碱诱导的凋亡相关蛋白表达
Fig. 9 Expression of apoptosis-related proteins induced by lycorine by Western blotting

3.7 石蒜碱对 CH157 细胞内 PI3K/Akt 信号通路的影响

AKT1 是石蒜碱抗脑膜瘤作用网络中的核心节点,且 KEGG 富集提示 PI3K-Akt 信号通路可能参与石蒜碱对脑膜瘤细胞恶性表型的调控。因此,本研究进一步采用 Western blotting 检测 PI3K、Akt 和 p-Akt 蛋白表达。如图 10 所示,与对照组相比,石蒜碱处理后 CH157 细胞中 PI3K 及 p-Akt 蛋白表达水平降低,p-Akt/Akt 比值下降,而总 Akt 表达变化相对较小,提示石蒜碱可抑制 PI3K/Akt 信号通路活化。该结果与网络药理学中 AKT1 作为核心靶点、PI3K-Akt 通路显著富集的结果相互印证,进一步增强了机制链条的实验支撑。

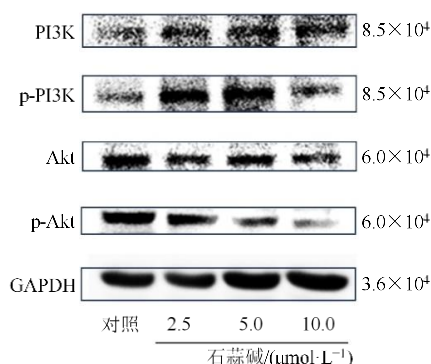
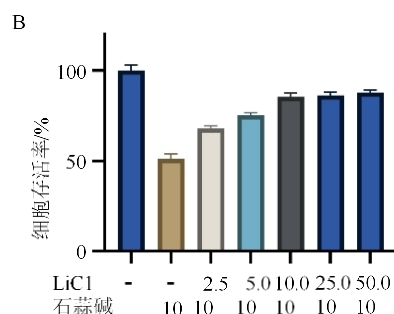
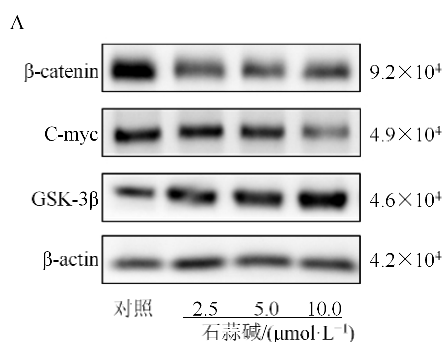


图 10 石蒜碱对 CH157 细胞 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达的影响

Fig. 10 Effects of lycorine on expression of PI3K/Akt signaling pathway-related proteins in CH157 cells



A-Western blotting 检测石蒜碱抑制肿瘤细胞中 Wnt/β-catenin 信号通路的作用; B-石蒜碱联合 β-catenin 通路激活剂 LiCl 对肿瘤细胞存活率的影响。
A-Western blotting was used to examine inhibitory effect of lycorine on Wnt/β-catenin signaling pathway in tumor cells; B-effects of lycorine combined with β-catenin pathway activator LiCl on viability of tumor cells.

图 11 石蒜碱调控 Wnt/β-catenin 通路抑制肿瘤细胞存活的机制验证

Fig. 11 Mechanism verification of lycorine regulating Wnt/β-catenin pathway to inhibit tumor cell survival

4 讨论

脑膜瘤占原发性颅内肿瘤的 39.7%，世界卫生组织（WHO）根据组织学特征（如有丝分裂计数）将脑膜瘤分为 3 个等级（I~III）^[14]。I 级脑膜瘤患者可以通过手术或放疗得到一定的治疗，但普遍存在手术难度大，复发率高和预后不佳的情况；而大多数 II 级或 III 级脑膜瘤患者有抗药性和肿瘤转移的风险，极易产生严重的神经功能障碍和死亡^[15]。目前，该疾病的发病机制仍未被完全阐明。研究表明 Wnt/β-catenin 信号通路在脑膜瘤的发生发展中扮演关键调控角色，其异常激活或相关调控分子的异常表达与脑膜瘤的增殖、侵袭及不良预后密切相关。具体而言，lncRNA LINC00702 在恶性脑膜瘤组织和细胞中高表达，通过 ceRNA 机制海绵吸附 miR-4652-3p 上调锌指 E 盒结合同源盒蛋白 1 (ZEB1)，进而激活 Wnt 通路，促进肿瘤细胞增殖和迁移，且

3.8 石蒜碱对 CH157 细胞内 Wnt/β-Catenin 信号通路的影响

如图 11-A 所示，与对照组相比，β-catenin、c-myc 的蛋白表达水平均下降，GSK-3β 蛋白表达水平上升，这些结果说明了石蒜碱能够抑制 β-catenin、c-myc 蛋白含量，同时上调 GSK-3β 含量，因而对 Wnt/β-Catenin 信号通路产生影响。为了进一步研究石蒜碱对 Wnt/β-Catenin 信号通路的抑制活性，使用不同浓度（2.5、5.0、10.0、25.0 mmol·L⁻¹）Wnt/β-catenin 通路激活剂 LiCl 与石蒜碱（10 μmol·L⁻¹）联用作用于 CH157 细胞，发现随着 LiCl 浓度增加，细胞存活率有浓度相关性的恢复，减弱了石蒜碱的抗癌效果（图 11-B）。

其高表达提示患者预后不佳^[16]；对于 NF2 突变型脑膜瘤，Merlin 蛋白低表达与肿瘤增殖及不良临床结局相关，CBP 抑制剂 ICG-001 可通过减弱 FOXM1 介导的 Wnt/β-catenin 通路，诱导肿瘤细胞 G₁ 期阻滞，在体外和患者来源异种移植模型中均能有效抑制肿瘤生长，为该类型脑膜瘤提供了潜在治疗策略^[17]；脑膜瘤相关蛋白 MAC30 虽在肝细胞癌研究中被证实通过调控 GSK-3β 磷酸化激活 Wnt/β-catenin 通路，促进肿瘤增殖侵袭，但其作为脑膜瘤相关蛋白的起源背景，也提示了该通路调控网络在脑膜瘤相关分子机制中的交叉关联性^[18]；此外，最新病例报道发现，调控 Wnt/β-catenin 通路的抑癌基因 APC 膜招募蛋白 1 (AMER1, WTX) 的突变可能是脑膜瘤发病的新分子事件，为散发性脑膜瘤的分子驱动机制研究提供了新方向^[19]。此外，该疾病尚无特效药，新的抗脑膜瘤活性药物研究十分紧迫。

石蒜碱作为一类具有重要研究价值的天然产物,其多元药理活性已成为天然药物化学与肿瘤药理学领域的研究热点^[20]。研究表明,石蒜碱及其衍生物通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路发挥抗多种肿瘤作用。在非小细胞肺癌中,石蒜碱通过直接阻断 Wnt/ β -catenin 通路,下调 β -catenin 蛋白水平并上调 GSK-3 β 表达,同时逆转上皮-间质转化(EMT)过程,显著抑制 A549、H460 细胞增殖并诱导凋亡,体内移植瘤模型进一步证实能抑制肿瘤生长与转移^[21]。同时,针对多发性骨髓瘤,石蒜碱同样以 Wnt/ β -catenin 通路为靶点,特异性靶向骨髓瘤干细胞样细胞(MMSCs),通过降低 β -catenin 及下游 c-myc、周期蛋白 D1(CCND1)的表达,减少醛脱氢酶 1⁺(ALDH1⁺)干细胞群体,还能克服硼替佐米诱导的耐药性,与化疗药物产生协同抗肿瘤效应^[22]。此外,在直肠癌中,RNA-seq 分析显示石蒜碱可调控包括 Wnt/ β -catenin 在内的多条肿瘤相关通路,通过下调 Axin2、Wnt3A 等通路关键基因,抑制肿瘤细胞迁移、侵袭及肺转移,且能通过 TNF 通路和内质网应激增强凋亡诱导作用^[23]。值得注意的是,在乳腺癌中,石蒜碱不仅可以抑制 Wnt/ β -catenin 通路活性,还通过调节 E-钙黏蛋白、N-钙黏蛋白及 F-actin 的表达逆转 EMT,将肿瘤细胞周期阻滞在 G₂/M 期,在体内 4T1/Luc 移植瘤模型中展现出显著的抑瘤和抗转移效果,且毒性较低^[24]。石蒜碱对 Wnt/ β -catenin 通路的抑制作用具有跨肿瘤类型的共性,其通过下调通路核心分子 β -catenin、调控下游靶基因表达及关联 EMT 过程,成为干预肿瘤增殖、转移及耐药的潜在天然活性分子,为多类型肿瘤的靶向治疗提供了新的研究方向。但石蒜碱能否通过调节 Wnt/ β -catenin 通路起到抗脑膜瘤作用尚未见报道。

通过多数据库、多参数网络药理学分析和 PI3K/Akt 通路蛋白验证,PI3K-Akt 通路在 KEGG 结果中显著富集,石蒜碱可降低 PI3K 与 p-Akt 水平,提示 PI3K/Akt 信号抑制可能是石蒜碱抗脑膜瘤作用的重要上游事件之一。考虑到 PI3K/Akt 可通过调控 GSK3 β 活性影响 β -catenin 稳定性,上述结果也为石蒜碱抑制 Wnt/ β -Catenin 通路提供了更合理的上游机制解释。

本研究揭示了 Wnt/ β -Catenin 信号通路与 PI3K/Akt 通路在石蒜碱抗恶性脑膜瘤过程中的调控作用,为阐明石蒜碱的特异性抗肿瘤机制提供了全新科学视角,也为后续开展针对性深入研究奠定

了坚实理论基础。然而,受研究周期限制,本研究尚未通过体内动物实验予以验证;同时,石蒜碱调控 Wnt/ β -Catenin 信号通路的上游分子靶点与下游调控网络仍有待进一步解析。上述科学问题的阐明,将为推动石蒜碱从基础研究迈向临床转化提供关键支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wang J Z, Landry A P, Raleigh D R, et al. Meningioma: International Consortium on Meningiomas consensus review on scientific advances and treatment paradigms for clinicians, researchers, and patients [J]. *Neuro Oncol*, 2024, 26(10): 1742-1780.
- [2] Flint-Richter P, Mandelzweig L, Oberman B, et al. Possible interaction between ionizing radiation, smoking, and gender in the causation of meningioma [J]. *Neuro Oncol*, 2011, 13(3): 345-352.
- [3] Khazanchi R, Nandoliya K R, Shahin M N, et al. Obesity and meningioma: A US population-based study paired with analysis of a multi-institutional cohort [J]. *J Neurosurg*, 2024, 140(6): 1558-1567.
- [4] Dave F, Herrera K, Lockley A, et al. Targeting MERTK on tumour cells and macrophages: A potential intervention for sporadic and NF2-related meningioma and schwannoma tumours [J]. *Oncogene*, 2024, 43(41): 3049-3061.
- [5] Choudhury A, Cady M A, Lucas C G, et al. Perivascular NOTCH³⁺ stem cells drive meningioma tumorigenesis and resistance to radiotherapy [J]. *Cancer Discov*, 2024, 14(10): 1823-1837.
- [6] Shahdeo D, Janjua T I, Peyre M, et al. Gene therapy and nanomedicine for meningioma treatment [J]. *J Control Release*, 2025, 384: 113881.
- [7] Zhang Y M, Li T, Xu C C, et al. Uncover the anticancer potential of lycorine [J]. *Chin Med*, 2024, 19(1): 121.
- [8] 冯洁, 綦峥, 薛沁冰, 等. 石蒜碱通过激活 STMN1 阻滞人乳腺癌 MCF-7 细胞周期分子机制研究 [J]. *中草药*, 2024, 55(15): 5125-5134.
Feng J, Qi Z, Xue Q B, et al. Mechanism of lycorine on inhibiting MCF-7 cell cycle by activating STMN1 [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(15): 5125-5134.
- [9] 辛国松, 杨燚, 张晶, 等. 基于红细胞免疫功能调节的石蒜碱体内抗肿瘤作用机制研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(2): 432-440.
Xin G S, Yang Y, Zhang J, et al. Anti-tumor mechanism of lycorine *in vivo* based on regulation of red blood cell immune function [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(2): 432-440.

- [10] Newman D J, Cragg G M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019 [J]. *J Nat Prod*, 2020, 83(3): 770-803.
- [11] Rahmani F, Mohammed Al-Asady A, Hanaie R, et al. Interplay between lncRNA/miRNA and Wnt/ β -catenin signaling in brain cancer tumorigenesis[J]. *EXCLI J*, 2023, 22: 1211-1222.
- [12] Na J R, Shaji S, Hanemann C O. Targeting histone deacetylase 6 (HDAC6) to enhance radiation therapy in meningiomas in a 2D and 3D *in vitro* study [J]. *eBioMedicine*, 2024, 105: 105211.
- [13] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的应用与挑战 [J]. *中草药*, 2024: 55(12): 4204-4213.
Liao Y N, Zhao K L, Guo H W. Application and challenges of network pharmacology research in traditional Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024: 55(12): 4204-4213.
- [14] Yamamoto M, Sanomachi T, Suzuki S, et al. Roles for hENT1 and dCK in gemcitabine sensitivity and malignancy of meningioma [J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(6): 945-954.
- [15] Chen W C, Choudhury A, Youngblood M W, et al. Targeted gene expression profiling predicts meningioma outcomes and radiotherapy responses [J]. *Nat Med*, 2023, 29(12): 3067-3076.
- [16] Li T F, Ren J Z, Ma J, et al. LINC00702/miR-4652-3p/ZEB1 axis promotes the progression of malignant meningioma through activating Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 113: 108718.
- [17] Deng J J, Hua L Y, Han T, et al. The CREB-binding protein inhibitor ICG-001: A promising therapeutic strategy in sporadic meningioma with NF2 mutations [J]. *Neurooncol Adv*, 2020, 2(1): vdz055.
- [18] Zhang Y, Li H, Wang J X, et al. Meningioma-associated protein 30 accelerates the proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma by modulating Wnt/GSK-3 β / β -catenin signaling [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2021, 53(1): 73-83.
- [19] Kumaria A, Weir P, Goldspring R, et al. Osteosclerosis and meningioma: Implicating the tumor suppressor GeneAMER1/WTX [J]. *Anticancer Res*, 2025, 45(11): 5233-5237.
- [20] Di Sotto A, Valipour M, Azari A, et al. Benzoindolizidine alkaloids tylophorine and lycorine and their analogues with antiviral, anti-inflammatory, and anticancer properties: Promises and challenges [J]. *Biomedicines*, 2023, 11(10): 2619.
- [21] Sun Y F, Wu P P, Sun Y, et al. Lycorine possesses notable anticancer potentials in on-small cell lung carcinoma cells via blocking Wnt/ β -catenin signaling and epithelial-mesenchymal transition (EMT) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(1): 911-921.
- [22] Wang H Q, Gong Y F, Liang L, et al. Lycorine targets multiple myeloma stem cell-like cells by inhibition of Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Br J Haematol*, 2020, 189(6): 1151-1164.
- [23] Gao L, Feng Y L, Ge C C, et al. Identification of molecular anti-metastasis mechanisms of lycorine in colorectal cancer by RNA-seq analysis [J]. *Phytomedicine*, 2021, 85: 153530.
- [24] Sun Y F, Gu Y, Gao X Y, et al. Lycorine suppresses the malignancy of breast carcinoma by modulating epithelial mesenchymal transition and β -catenin signaling [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 195: 106866.

[责任编辑 齐静雯]