

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.09.007

· 基础研究 ·

芒柄花素调节 JAK/STAT 信号通路对胆囊癌细胞恶性生物学行为及血管生成的影响

王刚, 刘秋华, 郭科, 朱振成, 申皓(张家港市第一人民医院 肝胆外科, 江苏 张家港 215600)

[摘要] **目的:**探究芒柄花素调节 JAK2/STAT3 信号通路对胆囊癌细胞 GBC-SD 恶性生物学行为及血管生成的影响。**方法:**常规培养 GBC-SD 细胞并构建其移植瘤裸鼠, 将 GBC-SD 细胞和其移植瘤裸鼠分为对照组、芒柄花素组、colivelin(JAK2/STAT3 激活剂)组、芒柄花素 + colivelin 组。用 MTT 法、Transwell 实验和流式细胞术分别检测各组细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 以及凋亡, 用 ELISA 法检测各组细胞血管内皮生长因子(VEGF)分泌水平, 血管生成拟态(VM)形成实验检测各组细胞的成管腔能力, 移植瘤实验检测芒柄花素对移植瘤生长的影响, 免疫组化法检测各组移植瘤组织中 CD31 和 VEGF 表达, WB 法检测各组细胞和移植瘤组织中 JAK2/STAT3 通路的磷酸化水平。**结果:**芒柄花素可明显抑制 GBC-SD 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 促进其凋亡(均 $P < 0.05$), 抑制 GBC-SD 细胞分泌 VEGF 和 VM 形成(均 $P < 0.05$), 抑制 GBC-SD 细胞移植瘤的生长及血管生成(均 $P < 0.05$), 抑制移植瘤组织中 VEGF 表达, 抑制 GBC-SD 细胞和其移植瘤组织中 JAK2/STAT3 通路的磷酸化, colivelin 均可逆转芒柄花素的上述作用(均 $P < 0.05$)。**结论:**芒柄花素通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路抑制 GBC-SD 细胞增殖、迁移、侵袭、血管形成, 促进其凋亡, JAK2/STAT3 信号通路是胆囊癌临床治疗的潜在靶点。

[关键词] 胆囊癌; 芒柄花素; JAK/STAT 通路; 增殖; 迁移; 侵袭; 血管生成拟态

[中图分类号] R735.8 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 09-0941-07

Effects of formononetin on malignant biological behaviors and angiogenesis of gallbladder cancer cells *via* regulating the JAK/STAT signaling pathway

WANG Gang, LIU Qiu-hua, GUO Ke, ZHU Zhen-cheng, SHEN Hao (Department of Hepatobiliary Surgery, Zhangjiagang First People's Hospital, Zhangjiagang 215600, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of formononetin on the malignant biological behavior and angiogenesis of gallbladder cancer GBC-SD cells through regulation of the JAK2/STAT3 signaling pathway. **Methods:** GBC-SD cells were cultured routinely, and their xenograft nude mouse models were constructed. The cells and mice were divided into control group, formononetin group, colivelin (JAK2/STAT3 activator) group, and formononetin + colivelin group. Cell proliferation, migration and invasion, and apoptosis were assessed using MTT, Transwell, and flow cytometry assays, respectively. ELISA was applied to measure the secretion levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in cells of each group. Vasculogenic mimicry (VM) formation assay was used to detect the tube formation ability of each group of cells. *In vivo*, the effects of formononetin on xenograft tumor growth were examined, and CD31 and VEGF expression in xenograft tissues were detected by immunohistochemistry. Western blotting was applied to analyze JAK2/STAT3 phosphorylation levels in both cells and tumor tissues. **Results:** Formononetin significantly inhibited the proliferation, migration, and invasion of GBC-SD cells and promoted apoptosis (all $P < 0.05$). It also suppressed VEGF secretion and VM formation in GBC-SD cells (all $P < 0.05$), inhibited the growth and vascular formation of GBC-SD xenograft tumors (all $P < 0.05$), reduced VEGF expression in transplanted tumor tissues, and decreased phosphorylation of the JAK2/STAT3 pathway in both GBC-SD cells and their xenograft tissues. These effects of formononetin were partially reversed by colivelin (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Formononetin inhibits GBC-SD cell proliferation, migration, invasion, and angiogenesis, and promotes apoptosis by suppressing the JAK2/STAT3 signaling pathway. The JAK2/STAT3 signaling pathway may serve as a potential therapeutic target for gallbladder cancer.

[Key words] gallbladder cancer; formononetin; JAK/STAT pathway; proliferation; migration; invasion; vascular mimicry

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(9): 941-947. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.09.007]

[基金项目] 张家港科技计划项目(No.202202)

[作者简介] 王刚(1985—), 男, 学士, 副主任医师, 主要从事肝胆外科基础与临床的研究

[通信作者] 申皓(扫码获取作者联系方式)



胆囊癌是一种罕见的胆道系统恶性肿瘤,其侵袭性强,因早期症状不明显而难以确诊,导致许多患者错失最佳治疗时机,预后较差,积极寻找有效抗癌药物有助于提升患者生存时间^[1-2]。JAK2/STAT3可通过调控细胞周期、凋亡、上皮间质转化等病理生理过程介导癌症的发生发展,下调JAK2和STAT3的磷酸化可诱导三阴性乳腺癌的细胞周期停滞及其凋亡^[3],还可通过阻碍前列腺癌细胞增殖、迁移而抑制其进展^[4]。DOGHISH等^[5]研究发现,JAK/STAT信号通路参与调节胆囊癌的发生发展,并可作为其潜在治疗靶标,而目前已经开发出主要靶向JAK-STAT通路的药物用于癌症的临床治疗^[6]。芒柄花素是一种具有植物雌激素特性和多种生物学功能的天然产物,表现出强大的抗癌活性,能通过抑制JAK/STAT信号通路而阻止癌细胞迁移、侵袭和血管生成^[7],并可剂量依赖性地抑制骨肉瘤细胞增殖并诱导其凋亡^[8],但芒柄花素是否可通过抑制JAK/STAT信号通路的激活来治疗胆囊癌,目前还不清楚。本文通过体外培养人胆囊癌细胞GBC-SD,并构建其移植瘤裸鼠模型,探究芒柄花素调节JAK2/STAT3信号通路对胆囊癌细胞恶性生物学行为的影响,旨在为芒柄花素在胆囊癌临床治疗中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、细胞及主要试剂

14~16 g、6周龄无胸腺雄性裸鼠裸鼠购自江苏艾菱菲生物公司[SCXK(苏)2022-0014],饲养在SPF级、温度23~25℃、相对湿度55%~65%的独立饲养房内,不限制食物和纯净水的供应。动物实验获得张家港市第一人民医院伦理委员会审批通过(批件号:伦2023-013)。

人胆囊癌细胞GBC-SD购自上海冠导生物工程有限公司。芒柄花素(货号:111703-201504,纯度为99.50%)购自商城北纳创联生物科技有限公司,colivelin(货号:WKQ-0014480,纯度HPLC≥98%)购自成都标样生物科技有限公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记驴抗兔二抗(货号:ab205722)、MTT检测试剂盒(货号:ab211091)、人VEGF ELISA试剂盒(货号:ab222510)、Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒(货号:ab14085)、兔抗人Anti-CD31(货号:ab28364)、p-JAK2(货号:ab32101)、p-STAT3(货号:ab76315)、JAK2(货号:ab108596)、GAPDH(货号:ab9485)、STAT3(货号:ab32500)和VEGF一抗(货号:ab52917)、结晶紫染色液(货号:ab246820)均购自英国Abcam公司,免疫组化试剂盒(HRP标记抗体鼠/兔IgG)购自攸碧艾(上海)贸易有限公司等。

K3 Plus酶标仪购自上海宝予德科学仪器有限公司,CytoFLEX流式细胞仪购自美国BECKMAN COULTER公司,SW269显微镜购自深圳市微谷光电仪器有限公司,DYY-2通用电泳仪电源、DYCZ-Y迷你垂直转印槽和DYCZ-4迷你垂直电泳槽均购自朗玛科技(武汉)有限公司。

1.2 筛选芒柄花素的体外细胞实验最佳浓度和体内裸鼠实验最佳干预剂量

用含10%胎牛血清和1%青-链霉素的DMEM培养基,在37℃、5%CO₂的培养箱中培养GBC-SD细胞。以1×10⁴个/孔将GBC-SD细胞接种于96孔板中,至细胞汇合度达70%时,用0、20、40、80、120 μmol/L的芒柄花素处理24 h^[9],加入MTT工作液处理后按MTT检测试剂盒操作说明检测各处理组细胞的光密度(D)值,以D值表示细胞的增殖活力。

参照文献[10]中方法制备GBC-SD移植瘤裸鼠:取第3代GBC-SD细胞用PBS制成1×10⁵个/mL的单细胞悬液,取100 μL注射至裸鼠右腋下,7 d后裸鼠皮下长出黄豆大小肿块提示移植瘤裸鼠制备成功,共成功制备24只,用数字表法随机将其分为4组,每组6只,用0、25、50、100 mg/kg芒柄花素分别进行干预治疗^[11],芒柄花素用生理盐水制成5、10、20 mg/mL的药液,注射量为5 mL/kg,生理盐水腹腔注射(5 mL/kg)作为对照组,各组裸鼠均于连续注射3周(每周注射3次)后颈椎脱臼处死,剪开皮肤取出肿瘤块,用游标卡尺测出其最长径和最短径后算出肿瘤体积(最长径×最短径²),每3 d测量一次肿瘤体积,每周测量一次裸鼠体质量。

1.3 裸鼠、细胞处理与分组

将第3代GBC-SD细胞以1×10⁵个/孔接种于24孔板中,细胞汇合度为70%时,将细胞随机分为对照组、芒柄花素组、colivelin组、芒柄花素+colivelin组,对照组细胞不以任何药物处理正常培养,芒柄花素组细胞以80 μmol/L的芒柄花素处理,colivelin组细胞以0.5 μmol/L的colivelin处理^[12],芒柄花素+colivelin组细胞以80 μmol/L的芒柄花素和0.5 μmol/L的colivelin联合处理,各组细胞均于处理24 h后进行后续实验检测。

以1.2节中的方法制备24只GBC-SD移植瘤裸鼠,随机分4组,用生理盐水制备20 mg/mL的芒柄花素药液、0.2 mg/mL的colivelin药液、芒柄花素(20 mg/mL)和colivelin(0.2 mg/mL)混合药液,对3组裸鼠分别进行腹腔注射(注射体积为5 mL/kg),依次设为芒柄花素(100 mg/kg)组、colivelin(1 mg/kg)^[13]组、芒柄花素(100 mg/kg)+colivelin(1 mg/kg)组,剩余1组用5 mL/kg生理盐水进行腹腔注射作为对照组,各组裸

鼠均于连续注射 3 周(每周注射 3 次)后颈椎脱臼处死,取出肿瘤块检测其大小及质量后进行续实验检测。

1.4 MTT 法、Transwell 实验和流式细胞术分别检测各组 GBC-SD 细胞的增殖、迁移、侵袭能力和凋亡

MTT 法:将第 3 代 GBC-SD 细胞以 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板中,细胞汇合度达 70% 时,按 1.3 节中的方法进行分组处理并用 MTT 法检测各组细胞的增殖活力。

Transwell 实验:按 1.3 节中的方法分组处理 GBC-SD 细胞 24 h 后收集细胞,用无血清 DMEM 培养基调制成 5×10^5 个/mL 的单细胞悬液,每组取 1 mL 分别接种在 2 个 24 孔 Transwell 小室上室内,其中一组 24 孔板的 Transwell 小室包被了基质胶,细胞贴壁生长 2 h 后再向每个 Transwell 小室下室内加入含 10% 血清的 DMEM 培养基,培养 24 h 后,擦除未迁移或侵袭的上室细胞,对下室细胞进行固定、结晶紫染色处理后,显微镜下观察拍摄各组下室细胞图像并统计迁移、侵袭的细胞数。

流式细胞术:按 1.3 节中的方法分组处理 GBC-SD 细胞 24 h 后,收集各组细胞,用 PBS 制成 5×10^5 个/mL 的单细胞悬液,每组取 1 mL 细胞悬液按 Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒操作说明书步骤进行 FITC/PI 双染,然后用流式细胞仪检测各组细胞的凋亡率。

1.5 ELISA 法和血管生成拟态(vasculogenic mimicry, VM)形成实验分别检测各组细胞 VEGF 分泌水平和 VM 形成情况

收集按 1.3 节中方法分组处理 GBC-SD 细胞 24 h 后,收集各组培养基,4 °C 下以 $500 \times g$ 离心 5 min,收集上清液,按 ELISA 试剂盒操作说明步骤进行处理,用酶标仪检测上清液中 VEGF 水平。

通过体外三维培养检测各组细胞 VM,以各组细胞管腔形成数评测其体外血管生成能力:取 24 孔培养板,每孔中加入 200 μ L 基质胶后于室温下固化备用,用 1.3 节中方法分组处理 24 h 后的各组 GBC-SD 细胞接种于固化胶上进行培养,细胞密度为 1×10^5 个/孔,培养 24 h 后于显微镜下观察各组细胞 VM 并拍摄其图像,运用 Image-Pro Plus 软件定量各组管腔形成数。

1.6 免疫组化法检测各组移植瘤组织中血管生成情况

用 10% 甲醛固定各组肿瘤块后,用常规方法进行脱水、透明、石蜡包埋、切片,选无破损的切片经脱蜡、水化后经 3% 双氧水处理,抗 CD31(1:200 稀释)和 VEGF(1:100 稀释)抗体 4 °C 下处理过夜,HRP 标记羊抗兔二抗室温下处理 1 h,DAB 显色液室温下显

色 10 min,最后脱水、透明、中性树胶封固后在显微镜下观察拍摄各组血管染色情况,运用 Image-Pro Plus 软件检测各组 CD31、VEGF 阳性表达的平均光密度值,以 CD31 阳性表达的平均光密度值大小评测血管生成强度。

1.7 WB 法检测各组细胞和移植瘤组织中 JAK2/STAT3 通路相关蛋白的表达

收集按 1.3 节中分组处理 24 h 后的各组 GBC-SD 细胞和各组移植瘤组织,用裂解液分别提取细胞和肿瘤组织的总蛋白,经 BCA 检测其浓度后煮沸 5 min,每组取 25 μ g 蛋白样本进行 SDS-PAGE 分离,湿式转印至硝酸纤维膜上,膜上蛋白经 5% 脱脂奶粉封闭处理后,抗 GAPDH(1:1 000 稀释)、p-JAK2(1:2 000 稀释)、p-STAT3(1:3 000 稀释)、JAK2 一抗(1:1 000 稀释)、STAT3(1:2 000 稀释)抗体下处理过夜,HRP 标记二抗(1:1 000)室温下处理 1 h,洗膜后进行显影、拍摄,运用 Image pro 软件定量各组蛋白灰度值,然后以内参 GAPDH 为基准量化其相对表达。

1.8 统计学处理

本实验数据运用 Graph Pad Prism 8.0 软件做统计学分析。符号正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间差异比较进行单因素方差分析,两两之间差异进一步比较行 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 芒柄花素体外细胞作用浓度与体内裸鼠干预剂量的筛选

MTT 法检测结果(图 1A)显色,与对照组比较,不同浓度的芒柄花素均可明显抑制 GBC-SD 细胞的增殖活力(均 $P < 0.05$),80 μ mol/L 的芒柄花素处理 GBC-SD 细胞后其细胞活力下降至对照组的一半,因而选择 80 μ mol/L 芒柄花素进行后续细胞实验;GBC-SD 细胞移植瘤形成实验检测结果(图 1B、C)显示,与对照组比较,各剂量组移植瘤生长均被显著抑制(均 $P < 0.05$),且呈剂量依赖性($P < 0.05$),但对裸鼠体质量无明显变化,选择 100 mg/kg 芒柄花素进行后续体内裸鼠实验。

2.2 芒柄花素可明显抑制 GBC-SD 细胞的增殖、迁移和侵袭能力,促进其凋亡,colivelin 可部分逆转其作用

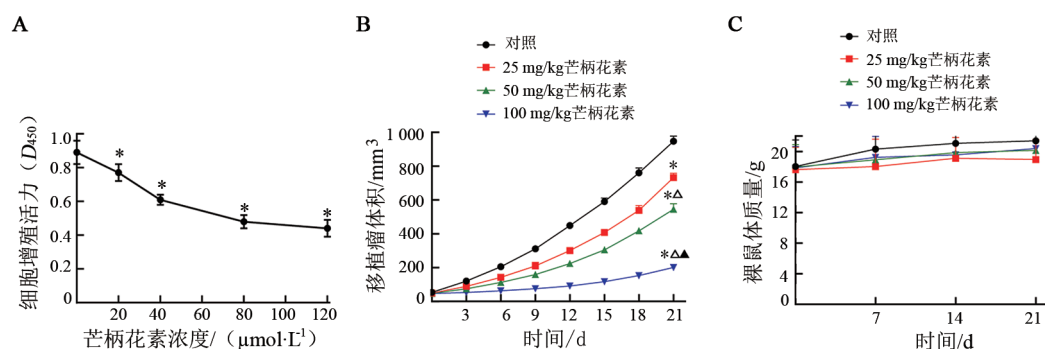
流式细胞术、Transwell 实验和 MTT 法检测结果(图 2)显示,与对照组相比,芒柄花素组 GBC-SD 细胞的增殖、迁移和侵袭能力均明显降低(均 $P < 0.05$),凋亡率明显升高($P < 0.05$);与对照组比较,colivelin 组细胞增殖、迁移和侵袭能力均明显升高(均 $P < 0.05$),凋亡率下降($P < 0.05$)。与芒柄花素组相比,芒柄花

素 + colivelin 组细胞的增殖、迁移和侵袭能力均明显升高 ($P < 0.05$), 凋亡率明显下降 ($P < 0.05$)。实验结果说明, 芒柄花素可明显抑制 GBC-SD 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 促进其凋亡, 而同时使用 colivelin 可部分逆转其作用。

2.3 芒柄花素可抑制 GBC-SD 细胞分泌 VEGF 和 VM 形成, colivelin 可部分逆转其作用

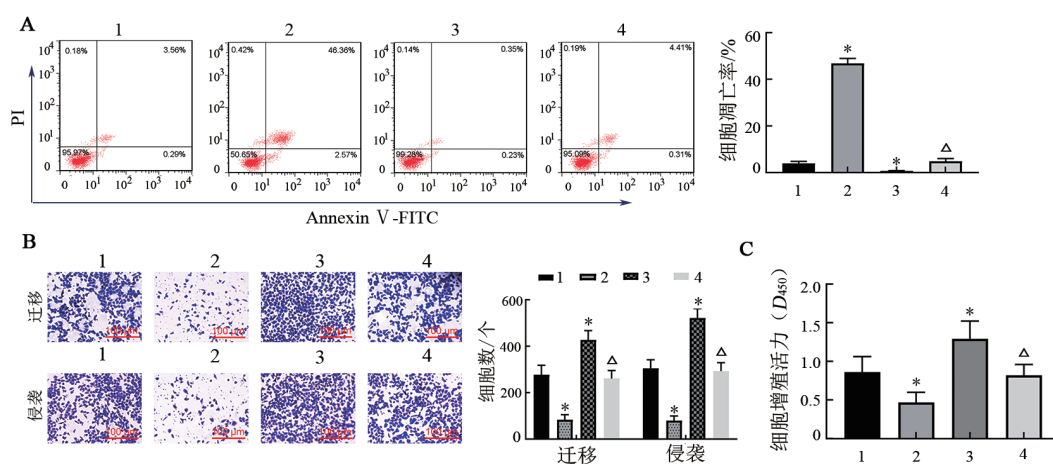
ELIAS 法和 VM 形成实验检测结果 (图 3) 显示,

与对照组相比, 芒柄花素组细胞 VEGF 分泌水平和管腔形成数均明显降低 (均 $P < 0.05$); colivelin 组细胞 VEGF 分泌水平和管腔形成数均明显升高 (均 $P < 0.05$)。与芒柄花素组相比, 芒柄花素 + colivelin 组细胞 VEGF 分泌水平和管腔形成数均明显升高 (均 $P < 0.05$)。实验结果说明, 芒柄花素可抑制 GBC-SD 细胞分泌 VEGF 和 VM 形成, 而同时使用 colivelin 可部分逆转其作用。



A: 不同浓度芒柄花素对 GBC-SD 细胞存活率的影响; B: 不同剂量芒柄花素对 GBC-SD 裸鼠肿瘤生长的影响; C: 不同剂量芒柄花素对 GBC-SD 裸鼠体质量的影响。与 0 μmol/L 芒柄花素或 0 mg/kg 芒柄花素相比, * $P < 0.05$; 与 25 mg/kg 芒柄花素相比, $\Delta P < 0.05$; 与 50 mg/kg 芒柄花素相比, $\triangle P < 0.05$ 。

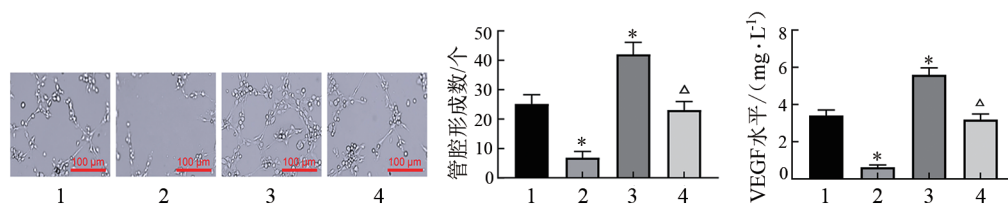
图 1 芒柄花素体外细胞作用浓度与体内裸鼠干预剂量的筛选



1: 对照组; 2: 芒柄花素组; 3: colivelin 组; 4: 芒柄花素 + colivelin 组。

A: 流式细胞实验检测各组细胞凋亡; B: Transwell 实验检测各组细胞迁移与侵袭; C: MTT 法检测各组细胞增殖。与对照组相比, * $P < 0.05$; 与芒柄花素组相比, $\Delta P < 0.05$ 。

图 2 芒柄花素对 GBC-SD 细胞的凋亡、迁移、侵袭和增殖能力的影响



1: 对照组; 2: 芒柄花素组; 3: colivelin 组; 4: 芒柄花素 + colivelin 组。

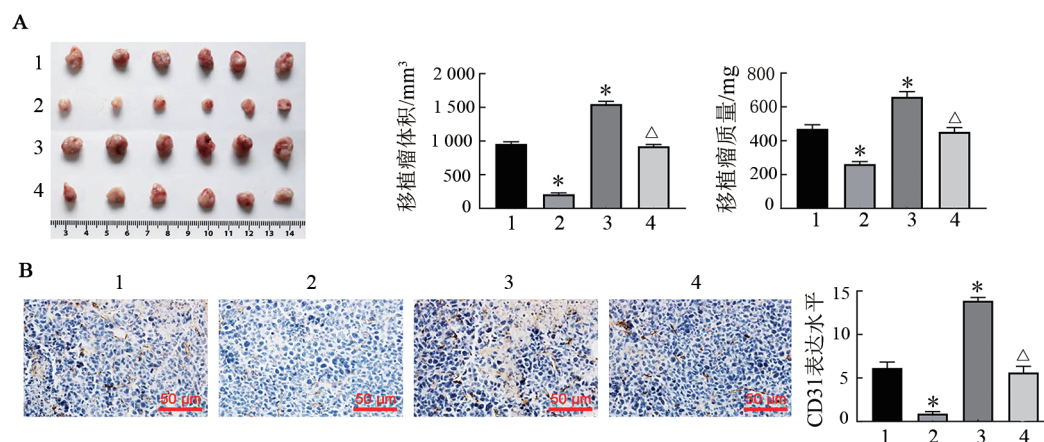
A: 体外三维培养检测各组 GBC-SD 细胞 VM 形成; B: ELISA 法检测各组细胞 VEGF 分泌水平。与对照组相比, * $P < 0.05$; 与芒柄花素组相比, $\Delta P < 0.05$ 。

图 3 芒柄花素对 GBC-SD 细胞 VM 形成和 VEGF 分泌的影响

2.4 芒柄花素可抑制 GBC-SD 裸鼠移植瘤的生长及血管生成而 colivelin 可逆转其作用

GBC-SD 细胞移植瘤实验和免疫组化法检测结果(图4)显示,与对照组相比,芒柄花素组裸鼠移植瘤肿瘤体积和质量,以及 CD31 表达水平均明显下降(均 $P < 0.05$),colivelin 组裸鼠移植瘤体积和质

量,以及 CD31 表达水平均明显升高(均 $P < 0.05$)。与芒柄花素组相比,芒柄花素 + colivelin 组裸鼠移植瘤体积和质量,以及 CD31 表达水平均明显升高(均 $P < 0.05$)。实验结果说明,芒柄花素可明显抑制 GBC-SD 细胞移植瘤的生长及血管生成,而同时使用 colivelin 可逆转其作用。



1: 对照组; 2: 芒柄花素组; 3: colivelin 组; 4: 芒柄花素 + colivelin 组。

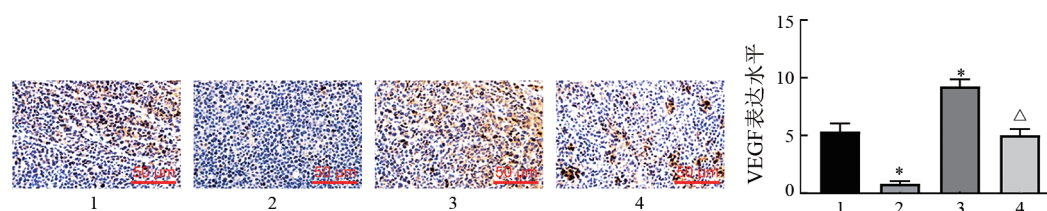
A: 各组裸鼠肿瘤图片; B: 各组裸鼠肿瘤体积; C: 各组裸鼠肿瘤质量; D: 各组裸鼠肿瘤 CD31 阳性表达。与对照组相比, $*P < 0.05$; 与芒柄花素组相比, $^{\Delta}P < 0.05$ 。

图4 芒柄花素对 GBC-SD 裸鼠移植瘤生长及血管生成的影响

2.5 芒柄花素可抑制移植瘤组织中 VEGF 表达而 colivelin 可逆转其作用

免疫组化法检测结果(图5)显示,与对照组相比,芒柄花素组移植瘤组织中 VEGF 表达水平明显下

降($P < 0.05$),colivelin 组移植瘤组织中 VEGF 表达水平明显升高($P < 0.05$);与芒柄花素组相比,芒柄花素 + colivelin 组移植瘤组织中 VEGF 表达水平明显升高($P < 0.05$)。



1: 对照组; 2: 芒柄花素组; 3: colivelin 组; 4: 芒柄花素 + colivelin 组。与对照组相比, $*P < 0.05$; 与芒柄花素组相比, $^{\Delta}P < 0.05$ 。

图5 免疫组化染色各组裸鼠肿瘤 VEGF 阳性表达

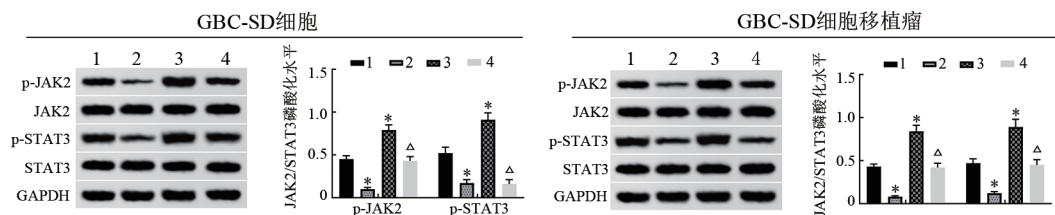
2.6 芒柄花素可抑制 GBC-SD 细胞及其移植瘤组织中 JAK2/STAT3 通路的磷酸化,而 colivelin 可逆转其作用

WB 法检测结果(图6)显示,与对照组相比,芒柄花素组细胞及其移植瘤组织中 p-JAK2 和 p-STAT3 表达水平均明显下降(均 $P < 0.05$),colivelin 组细胞及其移植瘤组织中 p-JAK2 和 p-STAT3 表达水平均明显升高(均 $P < 0.05$);与芒柄花素组相比,芒柄花素 + colivelin 组细胞及其移植瘤组织中 p-JAK2 和 p-STAT3 均明显升高(均 $P < 0.05$)。实验结果说明,芒柄花素可抑制 JAK2/STAT3 通路的磷酸化,而

colivelin 可逆转其作用。

3 讨论

胆囊癌临床治疗手段有限,只有少数患者可行根治性手术切除,多数患者因早期难以确诊而耽误治疗,导致预后不佳,病死率很高,因此,探索新的药物来抑制胆囊癌的发生发展是目前亟待解决的问题^[14-16]。天然植物药物可通过改变肿瘤微环境和癌细胞生长、凋亡等病理生理过程而在癌症治疗中发挥重要作用,是目前抗癌药物的重要来源之一。芒柄花素是红三叶草和黄芪等天然植物中的活性成



1:对照组;2:芒柄花素组;3:colivelin组;4:芒柄花素+colivelin组。与对照组相比,* $P < 0.05$;与芒柄花素组相比,^ $P < 0.05$ 。

图6 免疫印迹检测各组GBC-SD细胞与裸鼠移植瘤组织中JAK2/STAT3通路蛋白表达

分,可作为天然抗癌药物使用,能通过调控细胞周期蛋白表达来阻碍宫颈癌细胞的增殖,并诱导活性氧大量产生而促进其凋亡^[17],还可引发急性髓系白血病细胞活性显著降低及生长停滞,并诱导其发生凋亡^[18],因而推测芒柄花素可因其抗癌活性而在胆囊癌治疗中发挥作用。本研究结果显示,芒柄花素可明显抑制GBC-SD细胞的增殖、迁移和侵袭能力,以及VEGF分泌水平和VM形成,并促进其凋亡;GBC-SD细胞裸鼠移植瘤实验检测结果显示,芒柄花素可明显抑制裸鼠移植瘤的生长及血管生成,揭示芒柄花素可能抑制胆囊癌的发生发展。

JAK/STAT作为重要的癌症调控信号,通常在癌症发生发展过程中被激活转导,并可诱导癌细胞增殖、迁移和治疗耐药性的发生^[5,19],阻止JAK/STAT信号通路的激活可抑制巨噬细胞的募集和M2极化,减轻肿瘤浸润区的强烈免疫抑制,进而延缓小鼠肝癌的生长^[20];另外,PAN等^[21]研究发现,激活JAK/STAT3信号通路可促进胆囊癌VM的形成和肿瘤生长,并与胆囊癌患者的不良预后密切相关,因此JAK/STAT通路可作为胆囊癌的潜在治疗靶标。本研究结果显示,芒柄花素可明显抑制GBC-SD细胞及其移植瘤组织中JAK2/STAT3通路的磷酸化水平,表明JAK2/STAT3信号通路参与调控芒柄花素对胆囊癌发生发展的抑制作用;JAK2/STAT3激活剂colivelin处理GBC-SD细胞及其移植瘤裸鼠,均可升高JAK2/STAT3通路的磷酸化水平,刺激JAK2/STAT3信号通路激活,进而促进胆囊癌细胞的恶性进展;以芒柄花素和colivelin联合处理GBC-SD细胞,可减弱芒柄花素单独处理对胆囊癌细胞体外增殖、血管生成、侵袭与迁移的抑制作用,拮抗其对胆囊癌细胞体外凋亡的促进作用;以芒柄花素和colivelin联合干预GBC-SD细胞移植瘤裸鼠,可削弱芒柄花素单独干预对胆囊癌细胞体内生长及血管生成的抑制作用,最终逆转芒柄花素对胆囊癌细胞的抗癌作用,揭示芒柄花素是通过阻止JAK2/STAT3信号通路激活而抑制胆囊癌细胞的恶性生物学行为。

综上所述,芒柄花素抑制JAK2/STAT3通路的磷酸化,进而阻碍胆囊癌细胞的增殖、迁移、侵袭及血

管形成能力,促进其凋亡,并抑制裸鼠移植瘤的生长与血管生成,最终抑制胆囊癌的发生发展。本研究证实芒柄花素可对胆囊癌细胞起到明显抗癌作用,初步表明其药理机制可能是抑制JAK2/STAT3信号途径激活,这是本研究的主要创新点。本研究为芒柄花素应用于胆囊癌的临床治疗提供理论依据,为提升胆囊癌患者预后提供了新的治疗思路,具有一定临床价值。

参考文献

- [1] VUTHALURU S, SHARMA P, CHOWDHURY S, *et al.* Global epidemiological trends and variations in the burden of gallbladder cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2023, 128(6): 980-988. DOI: 10.1002/jso.27450.
- [2] TALAPATRA K, LEWIS S. Making inroads of radiotherapy in gallbladder cancer[J]. *Indian J Cancer*, 2023, 60(4): 447-448. DOI: 10.4103/ijc.ijc_2_24.
- [3] SHAKYA R, PARK G H, JOO S H, *et al.* Hydroxyzine induces cell death in triple-negative breast cancer cells *via* mitochondrial superoxide and modulation of Jak2/STAT3 signaling[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2022, 30(6): 585-592. DOI: 10.4062/biomolther.2022.121.
- [4] YU C G, FAN Y, ZHANG Y, *et al.* LINC00893 inhibits the progression of prostate cancer through miR-3173-5p/SOCS3/JAK2/STAT3 pathway[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1): 228[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35818076/>. DOI: 10.1186/s12935-022-02637-4.
- [5] DOGHISH A S, MIDAN H M, ELBADRY A M M, *et al.* The potential role of miRNAs in the pathogenesis of gallbladder cancer - A focus on signaling pathways interplay [J/OL]. *Pathol Res Pract*, 2023, 248: 154682[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37451195/>. DOI: 10.1016/j.prp.2023.154682.
- [6] XUE C, YAO Q F, GU X Y, *et al.* Evolving cognition of the JAK-STAT signaling pathway: autoimmune disorders and cancer[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 204[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37208335/>. DOI: 10.1038/s41392-023-01468-7.
- [7] ALIYA S, ALHAMMADI M, PARK U, *et al.* The potential role of formononetin in cancer treatment: an updated review [J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 168: 115811[2025-05-

- 11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37922652/>. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115811.
- [8] CHEN L Z, ZHOU Y, WENG Z, *et al.* Anti-cancer targets and molecular mechanisms of formononetin in treating osteosarcoma based on network pharmacology[J]. *Aging* (Albany NY), 2023, 15(20): 11489-11507. DOI: 10.18632/aging.205139.
- [9] LIU H M, WANG Z P, LIU Z G. Formononetin restrains tumorigenesis of breast tumor by restraining STING-NF- κ B and interfering with the activation of PD-L1[J]. *Discov Med*, 2024, 36(182): 613-620. DOI: 10.24976/Discov.Med.202436182.58.
- [10] 王京京, 李全福, 张立广, 等. 紫檀芪调控微小 RNA-340-5p/髓细胞白血病-1 轴对胆囊癌 SD 细胞生物学行为的影响实验研究[J]. *陕西医学杂志*, 2024, 53(3): 322-326, 330. DOI: 10.3969/j.issn.1000-7377.2024.03.007.
- [11] 李汭, 蒋承志, 陈建婷, 等. 芒柄花黄素对小鼠 H22 肝癌移植瘤的抗肿瘤作用[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2023, 39(12): 1063-1068. DOI: 10.13423/j.cnki.cicmi.009768.
- [12] 向波, 李世琪, 颜娅. 丙泊酚对卵巢癌细胞侵袭转移的作用机制研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(7): 667-670. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2022.07.012.
- [13] 丁伊, 王孟清, 罗银河, 等. 五虎汤抑制 STAT3 蛋白调控树突细胞自噬治疗 RSV 诱发哮喘小鼠[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(9): 9-18. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20210602.
- [14] SHAH S, SWEENEY R, WEGNER R E. Survival benefit with re-resection and optimal time to re-resection in gallbladder cancer: a national cancer database study[J]. *J Gastrointest Cancer*, 2023, 54(4): 1331-1337. DOI: 10.1007/s12029-023-00934-3.
- [15] SUN Y X, LI X X, CHENG H H, *et al.* Drug resistance and new therapies in gallbladder cancer[J]. *Drug Discov Ther*, 2023, 17(4): 220-229. DOI: 10.5582/DDT.2023.01013.
- [16] SUN Y J, GONG J F, LI Z, *et al.* Gallbladder cancer: surgical treatment, immunotherapy, and targeted therapy[J]. *Postgrad Med*, 2024, 136(3): 278-291. DOI: 10.1080/00325481.2024.2345585.
- [17] JIANG P, JIANG W, LI X J, *et al.* Combination of formononetin and sulforaphane natural drug repress the proliferation of cervical cancer cells *via* impeding PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2024, 196(10): 6726-6744. DOI: 10.1007/s12010-024-04873-y.
- [18] ABBASI Y, POOLADI M, NAZMABADI R, *et al.* Formononetin and dihydroartemisinin act synergistically to induce apoptosis in human acute myeloid leukemia cell lines[J]. *Cell J*, 2024, 26(2): 121-129. DOI: 10.22074/cellj.2024.2016937.1459.
- [19] LÓPEZ-MEJÍA J A, MANTILLA-OLLARVES J C, ROCHA-ZAVALA L. Modulation of JAK-STAT signaling by LNK: a forgotten oncogenic pathway in hormone receptor-positive breast cancer[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14777[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37834225/>. DOI: 10.3390/ijms241914777.
- [20] WU L, YAN J Y, BAI Y Q, *et al.* An invasive zone in human liver cancer identified by Stereo-seq promotes hepatocyte-tumor cell crosstalk, local immunosuppression and tumor progression[J]. *Cell Res*, 2023, 33(8): 585-603. DOI: 10.1038/s41422-023-00831-1.
- [21] PAN M S, WANG H, ANSARI K H, *et al.* Gallbladder cancer-associated fibroblasts promote vasculogenic mimicry formation and tumor growth in gallbladder cancer *via* upregulating the expression of NOX4, a poor prognosis factor, through IL-6-JAK-STAT3 signal pathway[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 234[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33153467/>. DOI: 10.1186/s13046-020-01742-4.

[收稿日期] 2025-05-08

[修回日期] 2025-08-14

[本文编辑] 向正华