

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.01.008

· 基础研究 ·

## 高良姜素调控 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路对胃癌 NCI-N87 细胞凋亡和自噬的影响

郭芳, 陈巍, 刘蒙, 邹艳丽, 田霞 (武汉市第三医院 消化内科, 湖北 武汉 430000)

**[摘要]** **目的:** 探讨高良姜素(Gal)调控 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路对胃癌细胞凋亡和自噬的影响及其机制。**方法:** 将胃癌 NCI-N87 细胞分为对照组、多索吗啡(DM)组、Gal 低剂量(Gal-L)组、Gal 高剂量(Gal-H)组、Gal-H + DM 组。采用 MTT 法、流式细胞术、划痕愈合实验和 Transwell 实验分别检测各组细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭能力, WB 法检测 PCNA、C-caspase-3、免疫逃逸相关蛋白(B7H1)、EMT 和 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路蛋白的表达水平。建立裸鼠 NCI-N87 细胞移植瘤模型, 观察 Gal 和 5-FU 对移植瘤的抑制效果。**结果:** 与对照组比较, DM 组 NCI-N87 细胞增殖活性、划痕愈合率和侵袭细胞数、N-cadherin、vimentin、PCNA、B7H1、p62 和 p-mTOR/mTOR 蛋白表达均显著升高(均  $P < 0.05$ ), 细胞凋亡率、C-caspase-3、E-cadherin、LC3 II/LC3 I、p-AMPK/AMPK 和 p-ULK1/ULK1 蛋白表达均显著降低(均  $P < 0.05$ ); Gal-L 组和 Gal-H 组 NCI-N87 细胞的增殖活性、划痕愈合率和侵袭细胞数、N-cadherin、vimentin、PCNA、B7H1、p62 和 p-mTOR/mTOR 蛋白表达均显著降低(均  $P < 0.05$ ), 细胞凋亡率、C-caspase-3、E-cadherin、LC3 II/LC3 I、p-AMPK/AMPK 和 p-ULK1/ULK1 蛋白表达均显著升高(均  $P < 0.05$ ); DM 可部分逆转 Gal 对 NCI-N87 细胞恶性生物学行为的抑制作用( $P < 0.05$ ); 与对照组比较, Gal 组和 5-FU 组裸鼠移植瘤体积和质量均显著降低, 肿瘤组织细胞凋亡率显著升高( $P < 0.05$ )。**结论:** Gal 可促进胃癌 NCI-N87 细胞自噬和凋亡, 抑制其增殖、迁移和侵袭, 可能与激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路有关。

**[关键词]** 高良姜素; 胃癌; NCI-N87 细胞; 凋亡; 自噬; AMPK/mTOR/ULK1 通路

**[中图分类号]** R735.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2026) 01-0059-07

## The effects of galangin on the apoptosis and autophagy of gastric cancer NCI-N87 cells through regulating the AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway

GUO Fang, CHEN Wei, LIU Meng, ZOU Yanli, TIAN Xia (Department of Gastroenterology, the Third Hospital of Wuhan, Wuhan 430000, Hubei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects and mechanisms of galangin (Gal) on the apoptosis and autophagy of gastric cancer NCI-N87 cells through regulating the AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway. **Methods:** Gastric cancer NCI-N87 cells were assigned into the control group, the dorsomorphin (DM, AMPK inhibitor) group, the Gal low-dose (Gal-L) group, the Gal high-dose (Gal-H) group, and the Gal-H + DM group. Cell proliferation, apoptosis, migration, and invasion abilities were detected using MTT assay, flow cytometry, wound healing assay, and Transwell assay, respectively. Western blotting was used to detect the expression levels of PCNA, cleaved caspase-3 (C-caspase-3), immune evasion-related protein (B7H1), EMT, and AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway proteins. A NCI-N87 cell xenograft tumor model was established in nude mice to observe the inhibitory effects of Gal and 5-FU on the growth of transplant tumors. **Results:** Compared with the control group, the DM group exhibited significantly increased proliferation activity, scratch healing rate, number of invasive cells, and protein expression levels of N-cadherin, vimentin, PCNA, B7H1, p62, and p-mTOR/mTOR in NCI-N87 cells (all  $P < 0.05$ ), along with significantly decreased apoptosis rate and protein expression levels of C-caspase-3, E-cadherin, LC3 II/LC3 I, p-AMPK/AMPK, and p-ULK1/ULK1 (all  $P < 0.05$ ). In contrast, both the Gal-L and Gal-H groups showed significantly decreased proliferation activity, scratch healing rate, number of invasive cells, and protein expression levels of N-cadherin, vimentin, PCNA, B7H1, p62, and p-mTOR/mTOR in NCI-N87 cells (all  $P < 0.05$ ), while displaying significantly increased apoptosis rate and protein expression levels of C-caspase-3, E-cadherin, LC3 II/LC3 I, p-AMPK/AMPK, and p-ULK1/ULK1 (all  $P < 0.05$ ). DM could partially reverse the inhibitory effect of Gal on the malignant biological behaviors of NCI-N87 cells ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, both the Gal group and the 5-FU group exhibited significant reductions in tumor volume and mass, as well as a

**[基金项目]** 武汉市医学科学研究项目(WX23Z20)

**[作者简介]** 郭芳, 硕士, 主治医师

**[通信作者]** 田霞 (扫码获取作者通信方式)



significant increase in the apoptosis rate of tumor tissue cells in nude mice ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Gal can promote the autophagy and apoptosis in gastric cancer NCI-N87 cells, inhibit their proliferation, migration, and invasion, which may be related to the activation of the AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway.

**[Key words]** galangin (Gal); gastric cancer; NCI-N87 cell; apoptosis; autophagy; AMPK/mTOR/ULK1 pathway

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(1): 59-65. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.01.008]

胃癌是一种原发性恶性肿瘤,起源于胃黏膜上皮细胞,全球发病率与致死率均居前列<sup>[1-2]</sup>。因早期症状隐匿、筛查率低,多数胃癌患者在晚期被诊断,手术疗效有限且五年生存率极低<sup>[3]</sup>。近年来,包括化疗、靶向疗法和免疫疗法在内的胃癌系统疗法有了显著的发展,但针对中晚期胃癌的治疗效果仍不尽如人意<sup>[4]</sup>。目前,胃癌发病机制尚未完全阐明,因此揭示其分子病因并探索早期诊断标志物与新型治疗策略,仍是医学研究的热点之一。高良姜素(galangin, Gal)是一种从传统中药材高良姜根茎中分离得到的天然黄酮类化合物,已被证实具有显著的抗肿瘤活性。研究<sup>[5-6]</sup>显示, Gal在体内外可抑制胃癌细胞增殖,促进凋亡并抑制肿瘤生长,该抗肿瘤效应与其激活自噬密切相关,但其具体分子机制仍有待阐明。AMPK/mTOR/ULK1信号通路在调控细胞代谢、自噬等过程中发挥关键作用<sup>[7]</sup>。研究<sup>[7]</sup>显示,激活AMPK/mTOR/ULK1通路可抑制三阴性乳腺癌细胞恶性表型,促进细胞自噬和凋亡;促进骨肉瘤细胞线粒体自噬和活性氧积累,抑制骨肉瘤细胞增殖<sup>[8]</sup>。本研究推测AMPK/mTOR/ULK1信号通路参与肿瘤进展。基于此,本研究旨在探究Gal是否通过调控AMPK/mTOR/ULK1信号通路影响胃癌细胞的凋亡和自噬。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞、动物及主要试剂

人胃癌NCI-N87细胞购自上海百利莱生物科技有限公司。雌性、体质量(20±2)g的SPF级BALB/c裸鼠购自武汉贝赛模式生物科技有限公司,使用许可证号SYXK(鄂)2025-0163,生产许可证号为SCXK(鄂)2022-0029。动物于标准化环境中自由摄食饮水,适应性饲养1周。环境条件设定为:室温(22±2)°C,相对湿度(60±5)%,采用12h光/12h黑循环。本研究符合武汉贝赛模式生物科技有限公司动物伦理委员会标准[审批号:BSMS动(福)第2024-03-058A号]。

Gal(纯度≥98%)购自武汉克米生物医药技术有限公司,AMPK抑制剂多索吗啡(dorsomorphin, DM)购自美国MCE公司,BCA、细胞凋亡和蛋白提取试剂盒、MTT试剂、Transwell小室均购自上海炎熙生物科技有限公司,LC3 II、p-AMPK、PCNA、p62、ULK1、N-cadherin、AMPK、vimentin、p-ULK1、E-cadherin、B7H1、p-mTOR、

LC3 I、mTOR、cleaved caspase-3(C-caspase-3)和β-actin一抗及IgG二抗均购自英国Abcam公司。

### 1.2 细胞培养及分组干预

将NCI-N87细胞分为对照组、DM组、Gal低剂量(Gal-L)组、Gal高剂量(Gal-H)组和Gal-H+DM组。对照组细胞正常培养,DM组细胞用10 μmol/L的DM干预培养<sup>[9]</sup>,Gal-L组和Gal-H组细胞分别用10 μmol/L和20 μmol/L的Gal干预培养<sup>[6]</sup>,Gal-H+DM组细胞用20 μmol/L的Gal和10 μmol/L的DM共同干预培养48 h,然后进行后续实验。

### 1.3 MTT法检测NCI-N87细胞的增殖活性

将各组细胞以90×g离心5 min,重悬调整密度为5×10<sup>4</sup>个/mL。取100 μL细胞悬液接种于96孔板,培养48 h后,每孔加入20 μL MTT溶液反应4 h,弃上清液,加入150 μL DMSO。于490 nm波长处用酶标仪测定光密度(D)值,以评估细胞增殖活性。

### 1.4 流式细胞术检测NCI-N87细胞的凋亡水平

收集各组NCI-N87细胞,重悬至细胞密度为1×10<sup>6</sup>个/mL。取200 μL细胞悬液加入24孔板,再依次加入试剂盒中的Annexin V-FITC(5 μL)和PI(10 μL)试剂,避光作用15 min。30 min内用流式细胞仪检测细胞的凋亡情况。按照公式“细胞凋亡率=凋亡细胞数/总细胞数×100%”计算细胞凋亡率。

### 1.5 划痕愈合实验检测NCI-N87细胞的迁移能力

将各组处于对数生长期的NCI-N87细胞调整密度至1×10<sup>5</sup>个/mL,按2 mL/孔接种于24孔板。待细胞贴壁并长至约60%汇合度时,用200 μL无菌吸头垂直于孔底划一条直线,PBS清洗3次,以去除脱落细胞,测量划痕宽度后,更换为无血清培养基。24 h后再次测量划痕宽度,按照公式“划痕愈合率=(0 h划痕宽度-24 h划痕宽度)/0 h划痕宽度×100%”计算细胞划痕愈合率。

### 1.6 Transwell实验检测NCI-N87细胞的侵袭能力

取NCI-N87细胞悬液(1×10<sup>5</sup>个/mL)100 μL加入预铺Matrigel基质胶的Transwell上室,下室中加入600 μL完全培养基,37°C培养24 h。小室经1%多聚甲醛固定30 min和0.1%结晶紫染色15 min后,于显微镜下拍照并计数侵袭细胞。

### 1.7 WB法检测NCI-N87细胞中增殖、凋亡、自噬和EMT及AMPK/mTOR/ULK1通路相关蛋白的表达

提取各组NCI-N87细胞总蛋白,经BCA法定量

后,于 95 °C 变性 5 min。每孔上样 10  $\mu$ L 进行 SDS-PAGE 分离并转膜。将 PVDF 膜在 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h,加入各蛋白一抗(1:1 500),4 °C 过夜。次日,在 IgG 二抗(1:4 000)中处理 2 h,最后使用 ECL 显影,通过 Image-Pro Plus 6.0 分析蛋白质条带的灰度值。

### 1.8 NCI-N87 细胞裸鼠移植瘤模型的构建及观察

将各组 NCI-N87 细胞离心收集后,调整细胞密度至  $2.5 \times 10^7$  个/mL,取 200  $\mu$ L 悬液注射至 BALB/c 裸鼠右侧腋部皮下,建立肿瘤模型。当肿瘤体积约 50 mm<sup>3</sup> 时开始用药进行治疗,将裸鼠随机分为对照组、Gal 组和 5-氟尿嘧啶(5-FU)组,每组 6 只。5-FU 组腹腔注射 50 mg/kg 的 5-FU 注射液,每周 2 次;Gal 组灌胃 120 mg/kg 的 Gal<sup>[6]</sup>,1 次/d;对照组灌胃等量生理盐水,每天 1 次,持续 28 d。给药期间,每 4 d 测量 1 次肿瘤体积。末次给药 8 h 后,断颈处死裸鼠,分离移植瘤,称量瘤质量并测定瘤体积。

### 1.9 TUNEL 染色检测移植瘤组织中细胞凋亡水平

肿瘤组织在 4% 多聚甲醛中固定 24 h,经石蜡包埋后切片(厚度 4  $\mu$ m)。切片依次脱蜡并进行梯度乙醇脱水,在蛋白酶 K 工作液室温中处理 10 min。随后滴加 TUNEL 反应混合液作用 60 min,DAPI 复染细胞核 10 min,封片后在荧光显微镜下观察并计算凋亡细胞率。

### 1.10 统计学处理

MTT、划痕愈合、Transwell、WB 等实验均独立重复 3 次。所有统计数据均采用 GraphPad Prism 8.0.1 软件进行分析。符合正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,若差异显著则进一步使用 SNK-*q* 检验进行两两比较。以  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Gal 抑制胃癌 NCI-N87 细胞增殖

MTT 法检测结果(表 1)显示,与对照组比较,DM 组 NCI-N87 细胞增殖活性显著增高( $P < 0.05$ ),Gal-L 组和 Gal-H 组 NCI-N87 细胞增殖活性显著降低(均  $P < 0.05$ );与 Gal-H 组比较,Gal-H + DM 组 NCI-N87 细胞增殖活性显著升高( $P < 0.05$ )。结果表明,Gal 显著抑制胃癌细胞增殖,而同时使用 AMPK 通路抑制剂 DM 则可部分逆转该抑制作用。

### 2.2 Gal 促进胃癌 NCI-N87 细胞凋亡

流式细胞术检测结果(图 1A、表 1)显示,与对照组比较,DM 组 NCI-N87 细胞凋亡率显著降低( $P < 0.05$ ),Gal-L 组和 Gal-H 组 NCI-N87 细胞凋亡率显著升高(均  $P < 0.05$ );与 Gal-H 组比较,Gal-H + DM 组 NCI-N87 细胞凋亡率显著降低( $P < 0.05$ )。结果表明,Gal 促进 NCI-N87 细胞凋亡,而同时使用 DM 则可

部分逆转 Gal 对凋亡的促进作用。

### 2.3 Gal 抑制胃癌 NCI-N87 细胞的迁移和侵袭能力

划痕愈合实验和 Transwell 实验检测结果(图 1B、C、表 1)显示,与对照组比较,DM 组 NCI-N87 细胞划痕愈合率和侵袭细胞数量显著升高(均  $P < 0.05$ ),Gal-L 组和 Gal-H 组 NCI-N87 细胞上述指标显著降低(均  $P < 0.05$ );与 Gal-H 组比较,Gal-H + DM 组 NCI-N87 细胞上述指标显著升高(均  $P < 0.05$ )。结果表明,Gal 降低 NCI-N87 细胞的迁移与侵袭能力,而同时使用 DM 则可部分逆转该作用。

### 2.4 Gal 对胃癌 NCI-N87 细胞中增殖、凋亡、EMT 相关蛋白表达的影响

WB 法检测结果(图 1D)显示,与对照组比较,DM 组 NCI-N87 细胞 C-caspase-3 和 E-cadherin 蛋白表达显著降低,vimentin、B7H1、PCNA 和 N-cadherin 蛋白表达显著升高(均  $P < 0.05$ );Gal-L 组和 Gal-H 组 C-caspase-3 和 E-cadherin 蛋白表达显著升高,vimentin、B7H1、PCNA 和 N-cadherin 蛋白表达显著降低(均  $P < 0.05$ );与 Gal-H 组比较,Gal-H + DM 组 NCI-N87 细胞 C-caspase-3 和 E-cadherin 蛋白表达显著降低,vimentin、B7H1、PCNA 和 N-cadherin 蛋白表达显著升高(均  $P < 0.05$ )。结果表明,Gal 促进 NCI-N87 细胞凋亡蛋白和 EMT 抗迁移蛋白表达,抑制增殖和 EMT 促迁移蛋白表达,而同时使用 DM 可部分逆转 Gal 对增殖、凋亡和 EMT 相关蛋白的作用。

### 2.5 Gal 对胃癌 NCI-N87 细胞中自噬和 AMPK/mTOR/ULK1 通路相关蛋白表达的影响

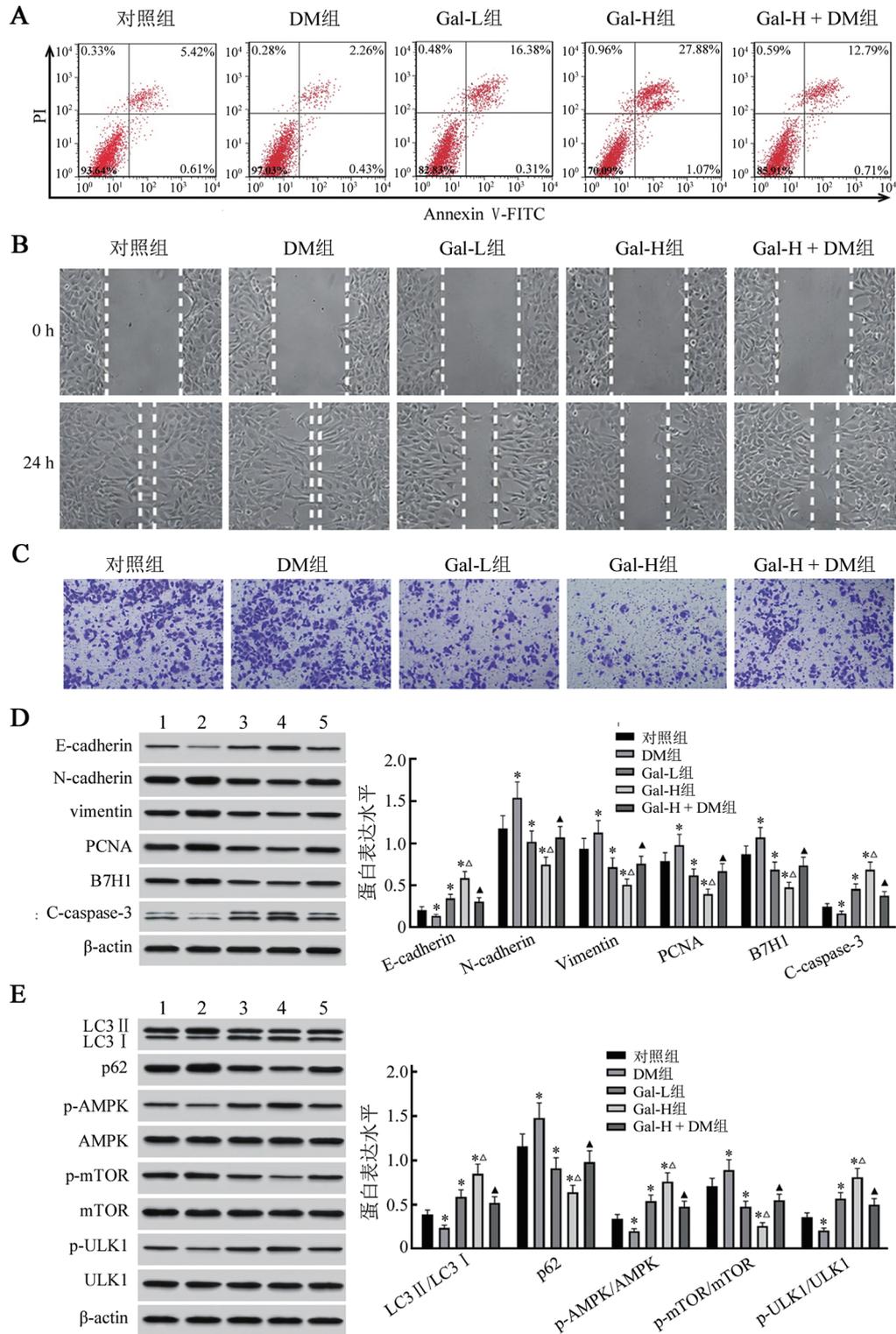
WB 法检测结果(图 1E)显示,与对照组比较,DM 组 NCI-N87 细胞 p62 和 p-mTOR/mTOR 蛋白表达显著升高,LC3 II/LC3 I、p-AMPK/AMPK 和 p-ULK1/ULK1 蛋白表达显著降低(均  $P < 0.05$ );Gal-L 组和 Gal-H 组 p62 和 p-mTOR/mTOR 蛋白表达显著降低,LC3 II/LC3 I、p-AMPK/AMPK 和 p-ULK1/ULK1 蛋白显著升高(均  $P < 0.05$ );与 Gal-H 组比较,Gal-H + DM 组 NCI-N87 细胞 p62 和 p-mTOR/mTOR 蛋白表达显著升高,LC3 II/LC3 I、p-AMPK/AMPK 和 p-ULK1/ULK1 蛋白表达显著降低(均  $P < 0.05$ )。结果表明,Gal 促进 NCI-N87 细胞自噬蛋白、p-AMPK/AMPK 和 p-ULK1/ULK1 蛋白表达,降低自噬负相关蛋白和 p-mTOR/mTOR 蛋白表达,而同时使用 DM 可部分逆转 Gal 对自噬和 AMPK/mTOR/ULK1 通路蛋白的调控作用。

### 2.6 Gal 和 5-FU 对裸鼠体质量、移植瘤质量和体积及肿瘤细胞凋亡的影响

成功构建 NCI-N87 细胞移植瘤裸鼠模型,结果见图 2、表 2。与对照组比较,Gal 组移植瘤体积和质量均显著降低(均  $P < 0.05$ ),肿瘤组织细胞凋亡率显

著升高( $P < 0.05$ ), 裸鼠体质量差异无统计学意义( $P = 0.265$ ); 5-FU 组裸鼠体质量、移植瘤体积和质量均显著降低(均  $P < 0.05$ ), 肿瘤细胞凋亡率显著升

高( $P < 0.05$ )。结果表明, Gal 和 5-FU 可抑制裸鼠肿瘤生长, 促进肿瘤细胞凋亡。



1: 对照组; 2: DM组; 3: Gal-L组; 4: Gal-H组; 5: Gal-H + DM组。

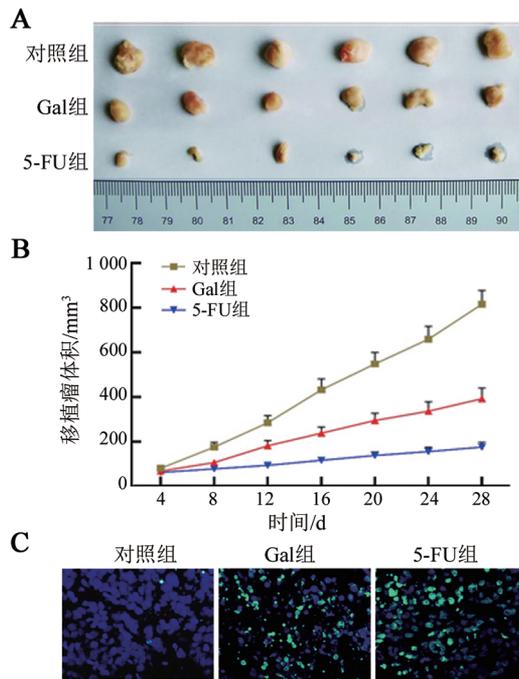
A: 流式细胞术检测细胞凋亡情况; B: 划痕愈合实验检测细胞迁移能力( $\times 200$ ); C: Transwell 实验检测细胞侵袭能力(结晶紫染色,  $\times 200$ ); D: WB 法检测细胞增殖、凋亡及 EMT 相关蛋白的表达; E: WB 法检测细胞自噬与 AMPK/mTOR/ULK1 通路相关蛋白的表达。与对照组比较,  $*P < 0.05$ ; 与 Gal-L 组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ ; 与 Gal-H 组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ 。

图 1 Gal 及 DM 对胃癌 NCI-N87 细胞凋亡、迁移、侵袭及相关蛋白表达的影响

表1 Gal及DM对NCI-N87细胞增殖、迁移和侵袭的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	细胞增殖/ $D_{490}$	细胞凋亡率/%	划痕愈合率/%	侵袭细胞数/个
对照组	0.80 ± 0.05	5.94 ± 0.76	78.63 ± 4.92	167.52 ± 20.31
DM组	0.93 ± 0.06*	2.63 ± 0.38*	92.54 ± 5.37*	213.87 ± 26.94*
Gal-L组	0.65 ± 0.04*	16.57 ± 2.13*	60.32 ± 4.18*	125.46 ± 17.53*
Gal-H组	0.49 ± 0.03* <sup>△</sup>	28.71 ± 3.24* <sup>△</sup>	41.76 ± 3.85* <sup>△</sup>	74.38 ± 10.26* <sup>△</sup>
Gal-H+DM组	0.71 ± 0.05* <sup>▲</sup>	13.28 ± 1.62* <sup>▲</sup>	67.49 ± 4.53* <sup>▲</sup>	142.61 ± 18.37* <sup>▲</sup>

与对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与Gal-L组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ;与Gal-H组比较,<sup>▲</sup> $P < 0.05$ 。



A: 移植瘤的外形; B: 移植瘤的生长曲线; C: TUNEL染色检测细胞凋亡情况( $\times 200$ )

图2 Gal和5-FU对胃癌NCI-N87细胞移植瘤生长的影响

表2 Gal和5-FU对胃癌NCI-N87细胞移植瘤裸鼠体质量和瘤质量、体积及细胞凋亡的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	治疗后体质量/g	移植瘤质量/mg	移植瘤体积/ $\text{mm}^3$	细胞凋亡率/%
对照组	24.16 ± 0.78	942.67 ± 31.85	816.53 ± 61.42	3.14 ± 0.16
Gal组	24.83 ± 1.15	463.54 ± 28.92*	392.78 ± 47.59*	64.83 ± 7.54*
5-FU组	18.94 ± 1.63*	218.32 ± 24.57*	175.87 ± 21.68*	87.51 ± 6.92*

与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

胃癌患者的预后不佳主要与肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移能力有关。EMT过程可使肿瘤细胞失去上皮特性,增强迁移和侵袭能力,E-cadherin表达下降削弱细胞间黏附,而N-cadherin和vimentin表达上升则促进细胞迁移<sup>[16]</sup>。PCNA是一种增殖细胞核抗原,参与DNA复制、修复和调节细胞周期,在癌细胞增殖过程中发挥关键作用<sup>[17]</sup>。免疫逃逸是癌细胞通过多种调控机制,逃避机体免疫系统的识别、攻击与清除,从而实现其自身在宿主体内持续存活、生长及

### 3 讨论

胃癌是一种侵袭性极强的胃肠道恶性肿瘤,诱发胃癌的危险因素包括饮食习惯、吸烟、饮酒、种族和家族遗传<sup>[10]</sup>。胃癌发病隐匿,早期无症状或无特异性症状,因此很难早期确诊<sup>[11]</sup>,患者病死率极高<sup>[12]</sup>。晚期胃癌患者通常采用化疗、放疗和手术等传统疗法进行治疗,这些疗法不仅会影响体内正常细胞的分化,导致机体免疫力下降,还会带来严重的不良反应,如胃肠不适、脱发,甚至损害某些组织器官的功能,且积极的联合治疗后患者的生存率仍然较低<sup>[13]</sup>。因此,积极探究新的治疗措施对治疗胃癌具有重要意义。Gal是从高良姜根茎中提取的一种天然的黄酮醇类化合物,对多种癌细胞具有抗肿瘤活性<sup>[5]</sup>。WANG等<sup>[14]</sup>研究发现,Gal可预防苯并芘诱导的小鼠胃癌发生,降低肿瘤发生率和肿瘤体积。LONG等<sup>[15]</sup>研究显示,Gal可抑制膀胱癌细胞增殖并诱导其凋亡,抑制癌症进展。本研究推测Gal具有抑癌活性,可发挥抗肿瘤功能。

转移的过程。B7H1为免疫逃逸相关蛋白,可评估细胞免疫逃逸能力。研究<sup>[18]</sup>显示,下调B7H1表达可抑制乳腺癌细胞免疫逃逸和迁移。本研究中,Gal干预可调控上述蛋白表达水平,抑制NCI-N87细胞增殖、迁移和免疫逃逸。自噬是一种细胞内的分解代谢过程,通过形成双层膜结构的自噬体,包裹细胞内的物质,如受损的细胞器、错误折叠的蛋白质和多余的营养物质等,然后将其运输到溶酶体进行降解,降解产物可被细胞重新利用,以维持细胞内的物质和能量

平衡。但细胞过度自噬可导致细胞内物质被过度降解,影响细胞正常生理功能,进而诱导细胞凋亡。自噬被激活时,LC3 I 会被加工形成 LC3 II,导致 LC3 II 的量增加,同时由于 LC3 I 不断被转化,其相对量会减少,因此 LC3 II/LC3 I 的比值会升高,该比值常被用作衡量自噬活性的指标。p62 是一种自噬负相关蛋白,在正常的自噬过程中,p62 蛋白会被包裹进自噬体,然后随自噬体与溶酶体的融合而被降解,因此,当自噬正常进行时,p62 的水平会降低。研究<sup>[19]</sup>显示,上调 LC3 II/LC3 I 比值,下调 p62 蛋白表达水平可促进宫颈癌细胞自噬和凋亡。C-caspase-3 作为细胞凋亡的关键执行蛋白,能够通过裂解多种细胞器结构蛋白与功能蛋白,破坏细胞稳态并最终启动程序性细胞死亡<sup>[20]</sup>。本研究中,Gal 处理可上调 C-caspase-3 与 LC3 II/LC3 I 比值,同时下调 p62 蛋白表达,表明 Gal 能够同时激活细胞凋亡与自噬进程。体内实验表明,Gal 可显著抑制肿瘤生长,并伴随肿瘤组织内凋亡细胞比例增加。本研究结果提示,Gal 可促进胃癌 NCI-N87 细胞自噬和凋亡,抑制其增殖、迁移和侵袭,与前人研究结果一致。

研究<sup>[21]</sup>显示,AMPK/mTOR/ULK1 信号通路参与调节细胞自噬、能量代谢、生长、增殖和凋亡等过程。ULK1 是一种自噬诱导蛋白,AMPK 被激活后可磷酸化 mTOR,从而抑制 mTORC1 的活性,进而促进 ULK1 磷酸化,促进自噬形成。FAKHREDINI 等<sup>[21]</sup>研究显示,激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路可抑制前列腺癌细胞增殖,促进细胞自噬和凋亡。SHEN 等<sup>[22]</sup>研究显示,激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路可诱导结直肠癌细胞自噬和凋亡。本研究中,Gal 干预后可上调 p-AMPK/AMPK 和 p-ULK1/ULK1 蛋白表达,下调 p-mTOR/mTOR 蛋白表达,激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路。为探究 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路是否调控 NCI-N87 细胞生物学活性,本研究用该通路抑制剂 DM 进行干预,结果显示,DM 促进 NCI-N87 细胞恶性生物学行为。为探究 Gal 是否通过激活该通路来发挥抑制 NCI-N87 细胞生物学活性的效果,本研究在 Gal 干预的同时用 DM 干预,结果显示 DM 可削弱 Gal 对 NCI-N87 细胞恶性生物学行为的抑制作用。提示 Gal 抑制胃癌 NCI-N87 细胞生物学活性可能与激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路有关。

综上所述,Gal 可能通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路来促进胃癌 NCI-N87 细胞自噬和凋亡,并抑制其增殖、迁移和侵袭。Gal 抑制胃癌细胞生物学活性机制复杂,可能还存在其他作用通路,后续还需进一步深入探究。

## [参考文献]

- [1] 李超,王世卉,林洁,等. LINC00894 调节 miR-205-5p/GPNMB 轴对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2025, 32(9): 912-919. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.09.003.
- [2] YOO H W, HONG S J, KIM S H. Helicobacter pylori treatment and gastric cancer risk after endoscopic resection of dysplasia: a nationwide cohort study[J]. Gastroenterology, 2024, 166(2): 313-322.e3. DOI: 10.1053/j.gastro.2023.10.013.
- [3] SUN Y, PUSPANATHAN P, LIM T, et al. Advances and challenges in gastric cancer testing: the role of biomarkers[J]. Cancer Biol Med, 2025, 22(3): 212-230. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2024.0386.
- [4] YANG W J, ZHAO H P, YU Y, et al. Updates on global epidemiology, risk and prognostic factors of gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(16): 2452-2468. DOI: 10.3748/wjg.v29.i16.2452.
- [5] LIANG X H, WANG P, YANG C, et al. Galangin inhibits gastric cancer growth through enhancing STAT3 mediated ROS production[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 646628. DOI: 10.3389/fphar.2021.646628.
- [6] 梁晓晖,余明珠,石海莲,等. 高良姜素抑制胃癌 MGC803 细胞 NF- $\kappa$ B 通路促进自噬[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(16): 4167-4174. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20210406.401.
- [7] ZHAO M, XU P L, SHI W J, et al. Icariin exerts anti-tumor activity by inducing autophagy via AMPK/mTOR/ULK1 pathway in triple-negative breast cancer[J]. Cancer Cell Int, 2024, 24(1): 74. DOI: 10.1186/s12935-024-03266-9.
- [8] SHEN W H, ZENG X C, ZENG X H, et al. Trifluoperazine activates AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway to induce mitophagy in osteosarcoma cells[J]. Chem Biol Interact, 2024, 392: 110904. DOI: 10.1016/j.cbi.2024.110904.
- [9] 鲁雨博,房彦乐,魏建新,等. 青蒿琥酯调节 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路对肾母细胞瘤细胞增殖、凋亡和自噬的影响[J]. 中国癌症防治杂志, 2024, 16(3): 295-301. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5671.2024.03.05.
- [10] MATSUOKA T, YASHIRO M. Bioinformatics analysis and validation of potential markers associated with prediction and prognosis of gastric cancer[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(11): 5880. DOI: 10.3390/ijms25115880.
- [11] LI D, MORGAN D R, CORRAL J E, et al. Gastric cancer screening in the United States: a review of current evidence, challenges, and future perspectives[J]. Am J Gastroenterol, 2025, 120(4): 765-777. DOI: 10.14309/ajg.0000000000003301.
- [12] LI Y, JIANG L Z, QU J F, et al. Research progress and prospect of nitrogen-containing heterocycle in anti-gastric cancer drugs: a review[J]. Curr Med Chem, 2025, 32(26): 5397-5432. DOI: 10.2174/0109298673296147240405113328.
- [13] SHI D K, YANG Z H, CAI Y N, et al. Research advances in the molecular classification of gastric cancer[J]. Cell Oncol (Dordr), 2024, 47(5): 1523-1536. DOI: 10.1007/s13402-024-00951-9.
- [14] WANG L, XUE J, WEI F, et al. Chemopreventive effect of galangin against benzo(a)Pyrene-induced stomach tumorigenesis through modulating aryl hydrocarbon receptor in Swiss albino mice[J]. Hum Exp Toxicol, 2021, 40(9): 1434-1444. DOI: 10.1177/0960327121997979.

- [15] LONG X M, CHEN L, YANG J, et al. Network-based pharmacology and *in vitro* validation reveal that galangin induces apoptosis in bladder cancer cells by promoting the P53 signaling pathway[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2023, 23(7): 847-857. DOI: 10.2174/1871520623666221026121600.
- [16] LU H, CAO L L, BALLOUT F, et al. Reflux conditions induce E-cadherin cleavage and EMT *via* APE1 redox function in oesophageal adenocarcinoma[J]. *Gut*, 2023, 73(1): 47-62. DOI: 10.1136/gutjnl-2023-329455.
- [17] HSU H T, KUO T M, WEI C Y, et al. Investigation of the impact of Globo-H expression on the progression of gastric cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2023, 13(7): 2969-2983.
- [18] 白文辉, 李英, 李宗龙. 柚皮苷通过 cGAS-STING 信号通路对乳腺癌细胞增殖、凋亡和免疫逃逸的影响[J]. *中国药房*, 2025, 36(16): 2012-2016. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.16.10.
- [19] LIU T Y, ZHOU Y, CHEN L J, et al. Splicing factor PTBP1 silencing induces apoptosis of human cervical cancer cells *via* PI3K/AKT pathway and autophagy[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2024, 29(8): 289. DOI: 10.31083/j.fbl2908289.
- [20] XU H B, SHEN X M, LI X K, et al. The natural product dehydrocurvularin induces apoptosis of gastric cancer cells by activating PARP-1 and caspase-3[J]. *Apoptosis*, 2023, 28(3/4): 525-538. DOI: 10.1007/s10495-023-01811-x.
- [21] FAKHREDINI F, ALIDADI H, MAHDAVINIA M, et al. Morin promotes autophagy in human PC3 prostate cancer cells by modulating AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway[J]. *Tissue Cell*, 2024, 91: 102557. DOI: 10.1016/j.tice.2024.102557.
- [22] SHEN J M, DONG J T, SHAO F, et al. Graphene oxide induces autophagy and apoptosis *via* the ROS-dependent AMPK/mTOR/ULK-1 pathway in colorectal cancer cells[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2022, 17(9): 591-605. DOI: 10.2217/nmm-2022-0030.
- [收稿日期] 2025-07-04 [修回日期] 2025-12-19  
[本文编辑] 党瑞山