DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2026.10.003

·基础研究·

茯苓酸经FOXO3-FOXM1轴抑制胃癌细胞增殖与侵袭的机制研究

王萍[1],王娟[2a],方宁[2a],贺延新[2b],鲁杰[3](1.青岛市中医医院暨青岛大学附属青岛市海慈医院 药剂科,山东 青岛 266033;2.康复大学青岛中心医院暨青岛市中心医院 a.门诊部;b.消化内科,山东 青岛 266042;3.青岛市市立医院暨康复大学青岛医院 胃肠外科,山东 青岛 266071)

[摘 要] **目的:**探究茯苓酸对胃癌AGS细胞增殖、侵袭、细胞周期及免疫相关分子水平的影响,并分析FOXO3-FOXM1轴在其中的可能作用。**方法:**采用CCK-8法检测不同浓度茯苓酸对胃癌AGS细胞和人永生化胃上皮细胞GES-1细胞活力的影响,并筛选后续实验浓度。将AGS细胞分为空白对照组、低-茯苓酸组、中-茯苓酸组、高-茯苓酸组、高-茯苓酸+FOXO3敲低对照(si-NC)组、高-茯苓酸+FOXO3敲低(si-FOXO3)组。采用集落形成实验、Transwell实验和免疫荧光法检测茯苓酸对AGS细胞增殖和侵袭能力的影响;采用PI染色流式细胞术检测细胞周期分布;Western blotting法检测Cyclin B1、CDK1、FOXO3及FOXM1蛋白的表达;ELISA检测细胞培养上清中PD-L1、MHC-Ⅰ、TGF-β1及IL-6含量。**结果:**茯苓酸可以浓度依赖性抑制AGS细胞的活力(IC_{50}为40.5 μmol/L),且在10~40 μmol/L范围内,对GES-1细胞活力无明显影响。与空白对照组相比,低、中、高浓度茯苓酸组AGS细胞集落形成数、Ki-67阳性率、侵袭细胞数及MMP-9阳性率均降低,G0/G1期和S期细胞比例降低,Cyclin B1和CDK1蛋白表达水平降低;细胞培养上清中PD-L1、TGF-β1和IL-6含量降低,FOXM1蛋白表达水平降低,而G2/M期细胞比例、MHC-Ⅰ类分子含量及FOXO3蛋白表达均升高(均$P<0.05$),且上述变化总体随茯苓酸浓度升高而更加明显。与高-茯苓酸+si-NC组比较,高-茯苓酸+si-FOXO3组上述变化均出现不同程度的逆转($P<0.05$)。**结论:**茯苓酸可在体外抑制胃癌AGS细胞增殖和侵袭,诱导G2/M期细胞周期阻滞,并影响免疫相关分子水平,其作用可能与FOXO3-FOXM1轴的调节有关。

[关键词] 茯苓酸;FOXO3-FOXM1轴;胃癌;AGS;增殖;侵袭;细胞周期
[中图分类号] R735.2;R730.2 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2026)10-1047-07

Pachymic acid inhibits proliferation and invasion of gastric cancer cells *via* the FOXO3-FOXM1 axis: a mechanism study

Wang Ping[1], Wang Juan[2a], Fang Ning[2a], He Yanxin[2b], Lu Jie[3] (1. Department of Pharmacy, Qingdao Hospital of Traditional Chinese Medicine & Qingdao Hiser Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao 266033, Shandong, China; 2. a. Outpatient Department; b. Department of Gastroenterology, University of Health and Rehabilitation Sciences & Qingdao Central Hospital, Qingdao 266042, Shandong, China; 3. Department of Gastrointestinal Surgery, Qingdao Municipal Hospital & Qingdao Hospital, University of Health and Rehabilitation Sciences, Qingdao 266071, Shandong, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effects of pachymic acid on the proliferation, invasion, cell-cycle distribution, and immune-related molecule levels of gastric cancer AGS cells, and to explore the potential involvement of the FOXO3-FOXM1 axis. **Methods:** The effects of different concentrations of pachymic acid on the viability of gastric cancer AGS cells and human immortalized gastric epithelial GES-1 cells were assessed using the CCK-8 assay, and appropriate concentrations were selected for subsequent experiments. AGS cells were divided into the blank control group, low-dose pachymic acid group, medium-dose pachymic acid group, high-dose pachymic acid group, high-dose pachymic acid + FOXO3 knockdown negative control (si-NC) group, and high-dose pachymic acid + FOXO3 knockdown (si-FOXO3) group. Colony formation assay, Transwell assay, and immunofluorescence staining were performed to evaluate the effects of pachymic acid on the proliferative and invasive abilities of AGS cells. Cell cycle distribution was analyzed by flow cytometry with propidium iodide (PI) staining. The protein expression levels of Cyclin B1, CDK1, FOXO3, and FOXM1 were determined by Western blotting. The levels of PD-L1, MHC-Ⅰ, TGF-β1, and IL-6 in cell culture supernatants were measured by ELISA. **Results:** Pachymic acid inhibited AGS cell viability in a concentration-dependent manner, with an IC_{50} of 40.5 μmol/L, while exerting no significant effect on GES-1 cell viability at concentrations of 10-40 μmol/L. Compared with the blank control group, the

[基金项目] 青岛市医药卫生科研指导项目(2023-WJZD189)
[作者简介] 王萍(1993—),女,本科,主管药师
[通信作者] 鲁杰(扫码获取作者通信方式)

low, medium, and high-dose pachymic acid groups showed significant decreases in the number of colonies, Ki-67 positivity, number of invasive cells, MMP-9 positivity, proportions of cells in the G0/G1 and S phases, protein expression levels of Cyclin B1 and CDK1, levels of PD-L1, TGF-β1, and IL-6 in the cell culture supernatants, and FOXM1 protein expression (all $P < 0.05$). In contrast, the proportion of cells in the G2/M phase, MHC-Ⅰ, and the FOXO3 protein expression were significantly increased (all $P < 0.05$). Overall, these changes became more pronounced with increasing concentrations of pachymic acid. Compared with the high-dose pachymic acid + si-NC group, these effects were reversed to varying degrees in the high-dose pachymic acid + si-FOXO3 group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Pachymic acid inhibits the proliferation and invasion of gastric cancer AGS cells *in vitro*, induces G2/M-phase cell cycle arrest, and modulates the levels of immune-related molecules. These effects may be associated with modulation of the FOXO3-FOXM1 axis.

[Key words] pachymic acid; FOXO3-FOXM1 axis; gastric cancer; AGS; proliferation; invasion; cell cycle

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(10): 1047-1053. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2026.10.003]

胃癌是全球高发的恶性肿瘤，其发病率在消化系统肿瘤中位居第二，远期死亡率长期处于高位[1]。随着现代临床诊疗技术的不断发展与完善，胃癌的整体疗效得到一定提升，但仍有患者在确诊时已进入中晚期，该阶段的肿瘤细胞极易发生转移，患者预后较差，5年生存率较低[2]。因此，亟须研发高效、低毒的新型抗胃癌药物。肿瘤的发生发展是多因素共同介导的复杂生物学过程，肿瘤细胞的无限增殖、高侵袭能力及细胞周期紊乱是其核心病理特征[3]。靶向干预上述关键环节，是有效提升胃癌治疗效果的重要策略。

茯苓酸是一种从茯苓中提取的活性成分，具备抗氧化、抗肿瘤等多种药理活性[4]。近年研究[5]发现，茯苓酸可通过靶向血小板衍生生长因子受体β（platelet-derived growth factor receptor β, PDGFRB）并调控PI3K/Akt信号通路，诱导胃癌细胞铁死亡，从而发挥抗肿瘤作用。FOXO3-FOXM1轴参与调控肿瘤细胞增殖、侵袭、细胞周期及药物敏感性等过程[6-7]。然而，目前关于茯苓酸能否通过调控FOXO3-FOXM1轴抑制胃癌细胞的恶性生物学行为尚缺乏直接证据。因此，本研究以人胃癌AGS细胞为对象，探究茯苓酸对胃癌细胞增殖、侵袭、细胞周期及FOXO3-FOXM1轴的影响，以期为胃癌临床治疗提供潜在药物选择。

1　材料与方法

1.1　细胞与主要试剂

人永生化胃上皮细胞GES-1（HT-X1964）和人胃腺癌细胞AGS（HT-X1739）均购自深圳豪地华拓生物科技有限公司，茯苓酸（HY-N0371，99.94%）、CCK-8试剂盒（HY-K0301）、RIPA裂解液（HY-K1001）均购自美国MedChemExpress。

si-FOXO3（正义链5'-GGAGUUUGGUCAAUCAGAATT-3'，反义链5'-UUCUGAUUGACCAAACUCCTT-3'）及si-NC（正义链5'-GACCGUCUGUGAAACUUCUTT-3'，反义链5'-AGAAGUUUCACAGACGGUCTT-3'）siRNA均由上海生工生物工程（上海）股份有限公司合成，Lipofectamine 3000（L3000015）购自美国赛默飞科技公司，Transwell小室（3422）和Matrigel基质胶（354248）购自美国Corning公司，人PD-L1（KE00559）、MHC-Ⅰ（KE00035）ELISA均购自武汉Proteintech公司，TGF-β1（ml064258）和IL-6（ml038115）ELISA均购自上海酶联生物科技有限公司，流式细胞周期检测试剂盒（PI染色，C1008M）购自上海碧云天生物技术股份有限公司，实验所用一抗Ki-67兔单克隆抗体（34330）、MMP-9兔单克隆抗体（13667）、Cyclin B1兔单克隆抗体（12231）、CDK1兔单克隆抗体（28439）、FOXO3a兔单克隆抗体（2829）、FOXM1兔单克隆抗体（20459）、β-actin兔单克隆抗体（4970）和HRP标记的山羊抗兔IgG二抗（7074）均购自美国Cell Signaling Technology公司，二抗山羊抗兔IgG H&L Alexa Fluor 488（ab150077）和山羊抗兔IgG H&L Alexa Fluor 594（ab150080）均购自英国Abcam公司。

1.2　CCK-8法检测不同浓度茯苓酸对GES-1与AGS细胞活力的影响

茯苓酸用DMSO配制成1×10^5 μmol/L储存液，实验时用无血清培养基稀释至中间工作浓度，再添加至细胞培养体系，确保DMSO终体积分数≤0.1%。将处于对数生长期的GES-1和AGS细胞以5×10^3个/孔的密度接种于96孔板，培养至细胞贴壁后，分别加入终浓度为0、5、10、20、40和80 μmol/L的茯苓酸溶液[5]继续培养24 h。随后，每孔加入10 μL CCK-8试剂，置于37 ℃、CO_2体积分数为5%的细胞培养箱中培养2 h，使用酶标仪测定每孔在450 nm处的光密度（*D*）值，以*D*值来表示细胞活力。

1.3　细胞分组及处理

将AGS细胞分为6组：空白对照组（不做任何处理）、低-茯苓酸组（10 μmol/L茯苓酸处理）、中-茯苓

酸组（20 μmol/L茯苓酸处理）、高-茯苓酸组（40 μmol/L茯苓酸处理）、高-茯苓酸＋si-NC组（转染0.05 μmol/L si-NC后加入40 μmol/L茯苓酸处理）、高-茯苓酸＋si-FOXO3组（转染0.05 μmol/L si-FOXO3后加入40 μmol/L茯苓酸处理）。细胞转染时，将AGS细胞以2 × 10^5个/孔的密度接种于6孔板，细胞贴壁后Lipofectamine 3000将si-NC或si-FOXO3转染至AGS细胞。转染后培养24 h，再加入相应浓度茯苓酸继续处理24 h，随后进行各项研究。

1.4 集落形成实验检测各组AGS细胞的集落形成能力

将经上述分组处理后的AGS细胞以500个/孔的密度接种于6孔板，轻轻摇匀后培养14 d。培养结束后，4%多聚甲醛固定15 min，随后使用结晶紫染色20 min。染色结束后，将6孔板放于倒置显微镜下观察拍照，统计含≥50个细胞的集落数。

1.5 Transwell实验检测各组AGS细胞侵袭能力

将Matrigel基质胶均匀铺于Transwell小室上室膜表面，待其凝固后备用。将经分组处理后的AGS细胞通过无血清培养基重悬（2 × 10^5个/mL），取200 μL细胞悬液接种于上室，下室加入600 μL完全培养基作为趋化条件。培养24 h后，弃去上室未侵袭细胞，采用多聚甲醛固定，结晶紫染色。随后，于倒置显微镜下（× 200）观察并拍照，选取视野进行侵袭细胞计数，以评价各组AGS细胞侵袭能力。

1.6 免疫荧光检测各组AGS细胞Ki-67和MMP-9阳性表达

将AGS细胞接种于放置有细胞爬片的24孔板（1 × 10^4个/孔）中进行培养，24 h后按1.3节进行分组处理。处理结束后，弃去培养液，每孔加入4%多聚甲醛室温固定15 min，随后弃去固定液并进行洗涤、透化。透化完成后，加入BSA封闭30 min。随后，分别添加Ki-67一抗（1∶500）和MMP-9一抗（1∶400），4 ℃反应过夜。次日，加入荧光二抗IgG H&L Alexa Fluor 488（对应Ki-67）、IgG H&L Alexa Fluor 594（对应MMP-9）（1∶1 000稀释），37 ℃避光培养1 h。 PBS洗涤3次后，滴加DAPI染液室温避光染核5 min，PBS洗涤后，用抗荧光淬灭封片剂封片。随后，置于荧光显微镜下观察并拍照（× 200倍视野），使用ImageJ软件计数阳性细胞，计算Ki-67和MMP-9阳性率。

1.7 流式细胞术检测各组AGS细胞周期进程

将经1.3分组处理后的AGS细胞用0.25%胰蛋白酶-EDTA消化，完全培养基终止消化后收集细胞，70%乙醇固定过夜。次日，离心后弃去乙醇并洗涤，加入500 μL PI（含RNase A 100 μg/mL）染色液，室温避光反应30 min。染色结束后，采用流式细胞仪检测细胞周期分布，ModFit LT软件分析G0/G1期、S期及G2/M期的细胞比例。

1.8 Western blotting检测各组AGS细胞周期及FOXO3-FOXM1轴相关蛋白表达

将经分组处理后的AGS细胞（1 × 10^6个）用RIPA裂解液提取总蛋白，蛋白样品经电泳转膜后使用脱脂牛奶封闭2 h。随后，分别加入Cyclin B1（1∶1 000）、CDK1（1∶1 000）、FOXO3（1∶1 000）、FOXM1（1∶1 000）及β-actin（1∶5 000）一抗，4 ℃反应过夜。次日，加入HRP标记的山羊抗兔IgG二抗（1∶5 000），室温下反应1 h，以β-actin为内参，采用ImageJ软件对条带灰度值进行定量分析，计算各目的蛋白的相对表达量。

1.9 ELISA检测各组AGS细胞培养上清中免疫相关分子水平

收集经分组处理后的AGS细胞（1 × 10^6个）培养上清液。按照PD-L1、MHC-Ⅰ、TGF-β1、IL-6 ELISA试剂盒说明书操作：于包被有捕获抗体的酶标板中分别加入标准品及待测样品（每孔100 μL），用封板膜封板后37 ℃培养1 h。洗涤后弃去孔内液体，加入对应试剂盒内的酶标检测抗体100 μL，37 ℃反应30 min。弃去液体，再次洗涤后加入显色底物溶液，室温避光15 min，终止反应后使用酶标仪在450 nm波长处测定各孔D值。以标准品浓度及其对应D值绘制标准曲线，根据标准曲线计算各待测样品中PD-L1、MHC-Ⅰ、TGF-β1及IL-6的质量浓度。

1.10 统计学处理

数据采用SPSS 26.0软件进行统计学分析，所有实验均每组设置6个复孔，独立重复3次。计量数据均以$\bar{x} \pm s$表示，多组间差异采用单因素方差分析（One-way ANOVA），并进一步以LSD-t检验进行组间两两比较。以$P < 0.05$或$P < 0.01$表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 茯苓酸浓度依赖性抑制AGS细胞活力

CCK-8法结果（表1）显示，当茯苓酸≥10 μmol/L时，AGS细胞活力均显著下降（$P < 0.05$），且其IC_{50}约为40.5 μmol/L。而对于GES-1细胞，仅在茯苓酸浓度≥80 μmol/L时才观察到细胞活力的明显降低（$P < 0.05$）。基于上述结果，后续实验选择对AGS细胞有影响且对GES-1细胞活力无影响的10、20、40 mol/L作为茯苓酸干预AGS细胞的低、中、高浓度。

2.2 茯苓酸抑制AGS细胞的增殖、侵袭

实验结果（图1）显示，与空白对照组相比，低、

中、高浓度茯苓酸组AGS细胞集落形成数和侵袭数量均减少，并且Ki-67和MMP-9阳性率均降低（$P<0.05$），且呈浓度依赖性下降；其中，高-茯苓酸组上述增殖、侵袭相关指标低于低、中浓度茯苓酸组（均$P<0.05$），与高-茯苓酸 + si-NC组比较，高-茯苓酸 + si-FOXO3组AGS细胞集落形成数和侵袭数量均增多，并且Ki-67和MMP-9阳性率均升高（$P<0.05$），提示FOXO3敲低可部分减弱茯苓酸对AGS细胞增殖、侵袭能力的抑制作用。

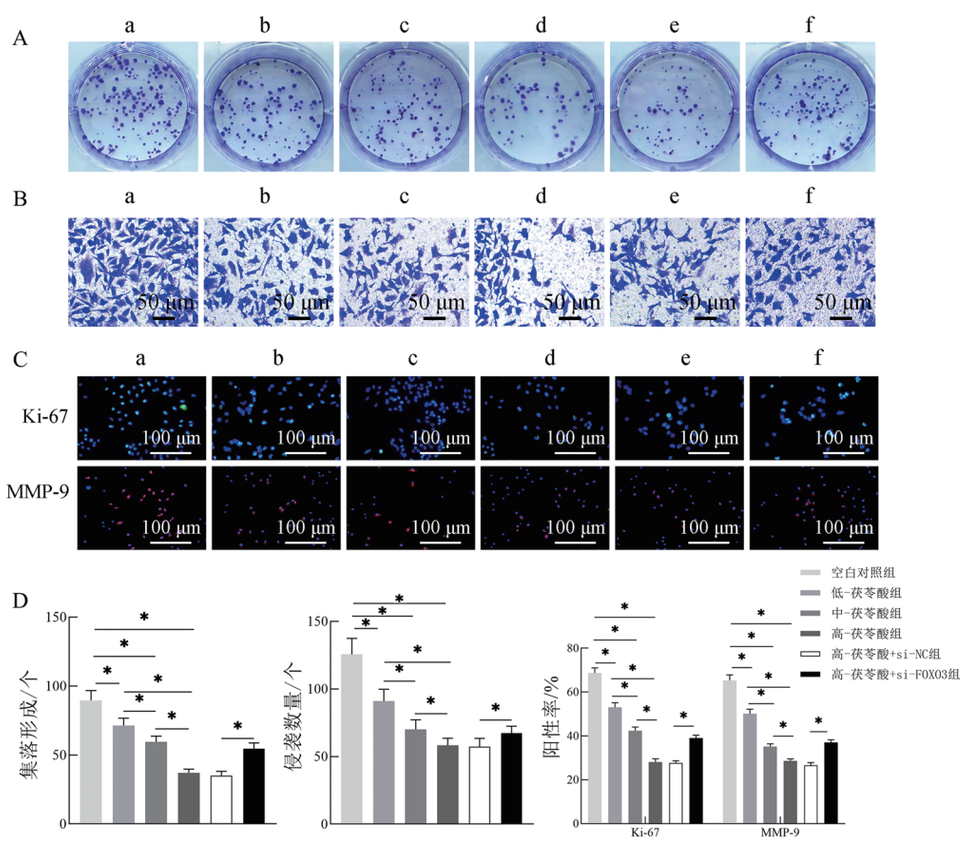
2.3　茯苓酸诱导AGS细胞G2/M期阻滞并抑制Cyclin B1、CDK1蛋白表达

结果（图2）显示，与空白对照组比较，低、中、高浓度茯苓酸组AGS细胞G0/G1期和S期细胞比例均显著降低，G2/M期细胞比例显著升高，同时Cyclin B1和CDK1蛋白表达均下调（均$P<0.05$），且呈浓度依赖性变化；其中，高-茯苓酸组各期细胞比例变化最为显著（$P<0.05$）。与高-茯苓酸 + si-NC组比较，高-茯苓酸 + si-FOXO3组G0/G1期和S期细胞比例显著升高，G2/M期细胞比例显著降低，同时Cyclin B1和CDK1蛋白表达均上调（$P<0.05$），提示FOXO3敲低可部分逆转茯苓酸诱导的G2/M期阻滞及Cyclin B1、CDK1蛋白下调，从而减弱茯苓酸对细胞增殖的抑制作用。

表1　CCK-8法检测不同浓度茯苓酸对AGS与GES-1细胞活力的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

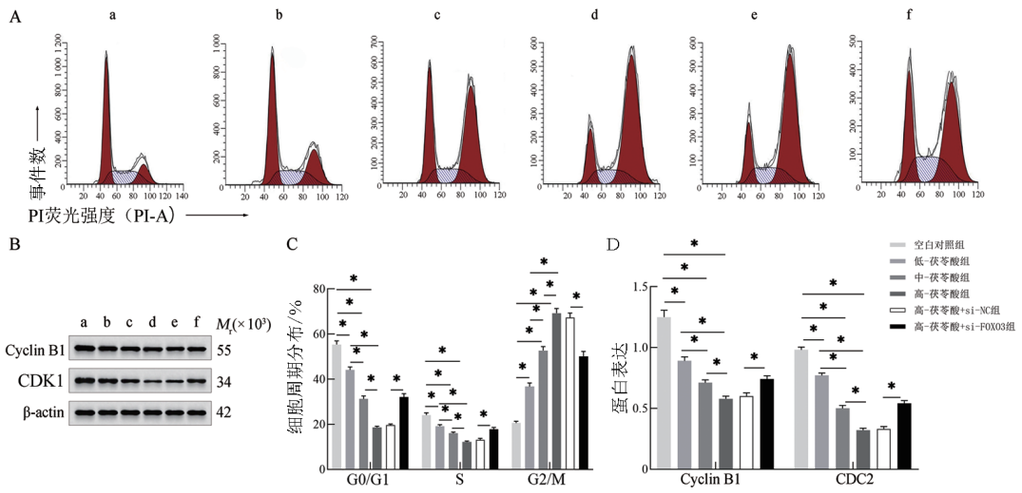
茯苓酸（μmol/L）	GES-1	AGS
0	1.18 ± 0.10	1.24 ± 0.15
5	1.15 ± 0.12	1.20 ± 0.16
10	1.16 ± 0.10	0.97 ± 0.10*
20	1.08 ± 0.09	0.84 ± 0.07*
40	0.97 ± 0.06	0.63 ± 0.06*
80	0.85 ± 0.04*	0.50 ± 0.06*
F值	18.637	120.459
P值	< 0.001	< 0.001

与茯苓酸0 μmol/L比较，*$P<0.05$。



A：集落形成实验（结晶紫染色）；B：Transwell侵袭实验（结晶紫染色）；C：免疫荧光染色检测Ki-67和MMP-9阳性表达；D：各组AGS细胞集落形成数、侵袭细胞数及Ki-67、MMP-9阳性率的定量分析。a：空白对照组；b：低-茯苓酸组；c：中-茯苓酸组；d：高-茯苓酸组；e：高-茯苓酸 + si-NC组；f：高-茯苓酸 + si-FOXO3组。*$P<0.05$。

图1　茯苓酸对AGS细胞增殖及侵袭能力的影响



A：流式细胞术PI染色检测细胞周期分布；B：Western blotting法检测Cyclin B1、CDK1蛋白表达；C：各组AGS细胞G0/G1、S及G2/M期比例的定量分析；D：各组AGS细胞Cyclin B1和CDK1蛋白相对表达量的定量分析。a：空白对照组；b：低-茯苓酸组；c：中-茯苓酸组；d：高-茯苓酸组；e：高-茯苓酸 + si-NC组；f：高-茯苓酸 + si-FOXO3组。$^{*}P < 0.05$。

图2　茯苓酸对AGS细胞周期及Cyclin B1、CDK1蛋白表达的影响

2.4　茯苓酸调节AGS细胞免疫相关分子表达

ELISA检测结果（表2）显示，与空白对照组相比，低、中、高浓度茯苓酸组AGS细胞培养上清中PD-L1、TGF-β1、IL-6质量浓度均显著降低，MHC-Ⅰ质量浓度显著升高（$P < 0.05$）；其中，高-茯苓酸组变化最为显著（$P < 0.05$）。与高-茯苓酸 + si-NC组比较，高-茯苓酸 + si-FOXO3组AGS细胞培养上清中PD-L1、TGF-β1、IL-6质量浓度均显著升高，MHC-Ⅰ质量浓度显著降低（$P < 0.05$）。上述结果提示，茯苓酸可调节AGS细胞分泌免疫相关分子的能力，而FOXO3敲低可部分逆转茯苓酸的上述调节作用。

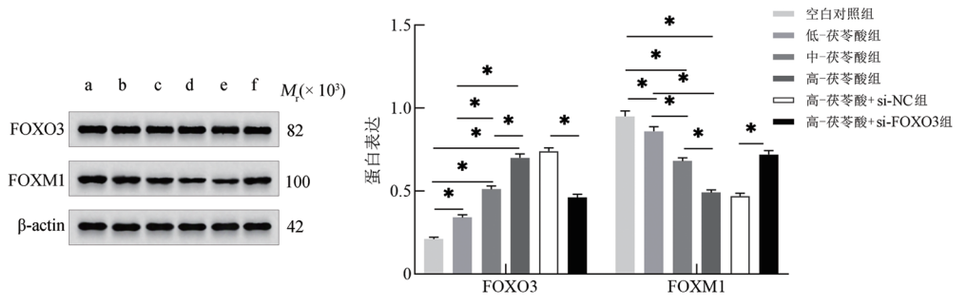
表2　各组AGS细胞培养上清液中PD-L1、MHC-Ⅰ、TGF-β1、IL-6的质量浓度比较（$\bar{x} \pm s$，$n = 6$）

分组	PD-L1（pg·mL^{-1}）	MHC-Ⅰ（pg·mL^{-1}）	TGF-β1（pg·mL^{-1}）	IL-6（pg·mL^{-1}）
空白对照组	45.64 ± 4.15	32.15 ± 3.05	71.62 ± 6.25	94.26 ± 8.75
低-茯苓酸组	32.02 ± 3.04*	50.06 ± 5.64*	54.16 ± 5.29*	69.65 ± 5.87*
中-茯苓酸组	20.39 ± 2.65$^{*\triangledown}$	73.98 ± 6.19$^{*\triangledown}$	30.09 ± 3.21$^{*\triangledown}$	55.64 ± 6.19$^{*\triangledown}$
高-茯苓酸组	12.19 ± 1.06$^{*\triangledown\blacktriangle}$	96.87 ± 8.36$^{*\triangledown\blacktriangle}$	14.67 ± 1.65$^{*\triangledown\blacktriangle}$	44.62 ± 3.65$^{*\triangledown\blacktriangle}$
高-茯苓酸 + si-NC组	13.87 ± 1.62	97.68 ± 5.98	15.84 ± 1.65	42.19 ± 4.19
高-茯苓酸 + si-FOXO3组	23.60 ± 2.16$^{\triangle}$	70.19 ± 5.26$^{\triangle}$	33.69 ± 2.68$^{\triangle}$	57.62 ± 4.19$^{\triangle}$
F值	142.503	155.827	135.719	78.962
P值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

与空白对照组比较，$^{*}P < 0.05$；与低-茯苓酸组比较，$^{\triangledown}P < 0.05$；与中-茯苓酸组比较，$^{\blacktriangle}P < 0.05$；与高-茯苓酸 + si-NC组比较，$^{\triangle}P < 0.05$。

2.5　茯苓酸调控FOXO3-FOXM1轴相关蛋白表达

Western blotting法检测结果（图3）显示，与空白对照组相比，低、中、高浓度茯苓酸组AGS细胞FOXO3蛋白水平均显著升高，FOXM1蛋白水平均显著降低（$P < 0.05$），且高-茯苓酸组变化最为显著（$P < 0.05$）。与高-茯苓酸 + si-NC组比较，高-茯苓酸 + si-FOXO3组AGS细胞FOXO3蛋白水平降低，FOXM1蛋白水平升高（$P < 0.05$）。上述结果提示，茯苓酸可能通过上调FOXO3蛋白表达抑制FOXM1表达，进而影响AGS细胞恶性表型，FOXO3敲低可部分逆转上述作用。



a：空白对照组；b：低-茯苓酸组；c：中-茯苓酸组；d：高-茯苓酸组；e：高-茯苓酸 + si-NC 组；f：高-茯苓酸 + si-FOXO3 组。*$P < 0.05$。

图3　Western blotting 法检测各组 FOXO3-FOXM1 轴相关蛋白的表达水平

3　讨　论

化疗耐药、肿瘤侵袭转移及术后复发是制约胃癌临床治疗效果、影响患者预后的重要因素[8-9]。因此，筛选可特异性抑制胃癌细胞恶性生物学行为、且对正常细胞毒性较低的高效候选药物，对改善胃癌治疗现状具有重要的临床价值与研究意义。人胃腺癌 AGS 细胞是目前开展胃癌细胞生物学机制及药物药效研究的经典细胞模型[10]。基于此，本研究以 AGS 胃癌细胞为实验对象，从细胞增殖、侵袭、细胞周期分布及相关调控分子表达层面探究茯苓酸对胃癌恶性生物学行为的抑制作用，并进一步阐明 FOXO3-FOXM1 信号轴在该过程中的潜在调控机制。

茯苓酸是从茯苓中分离获得的天然活性成分，已有研究[11-12]表明其具有一定的抗肿瘤活性，可通过影响凋亡、线粒体功能及细胞周期等过程抑制胃癌细胞生长，并可能增强胃癌细胞对放射治疗的敏感性。本研究首先采用 CCK-8 法筛选茯苓酸的实验浓度。结果显示，10、20 和 40 μmol/L 茯苓酸均可不同程度降低 AGS 细胞活力，而相同浓度范围内未观察到 GES-1 细胞活力的显著下降，因此选取上述浓度作为后续低、中、高剂量干预浓度。

进一步研究发现，随着茯苓酸浓度升高，AGS 细胞集落形成数、Ki-67 阳性率、侵袭细胞数及 MMP-9 阳性率逐渐降低，提示茯苓酸能够抑制 AGS 细胞的增殖和侵袭能力。罗园园等[13]发现，茯苓酸可通过调节 Smad 相关信号及基质金属蛋白酶/组织金属蛋白酶抑制因子（matrix metalloproteinase/tissue inhibitor of metalloproteinase, MMP/TIMP）平衡抑制肾癌细胞的增殖和侵袭，其结果与本研究观察到的侵袭抑制趋势一致。MMP-9 参与细胞外基质降解，与肿瘤细胞侵袭能力密切相关；本研究中 MMP-9 阳性率与 Transwell 侵袭细胞数呈相似变化趋势，两项结果共同支持茯苓酸对 AGS 细胞侵袭表型的抑制作用。

细胞周期失调是肿瘤细胞持续增殖的重要特征之一。孙桂霞等[14]研究报道，茯苓酸可诱导宫颈癌细胞 G2/M 期阻滞，并下调 Cyclin D1、CDK4 等增殖相关蛋白表达。本研究流式细胞术结果显示，茯苓酸处理后 AGS 细胞 G2/M 期比例升高，而 G0/G1 期和 S 期比例降低；与此同时，Cyclin B1 和 CDK1 的蛋白表达水平下降，提示茯苓酸可影响 AGS 细胞 G2/M 期转换。Cyclin B1 和 CDK1 是参与 G2/M 期调控的重要周期相关蛋白，其表达下降与本研究观察到的 G2/M 期细胞积聚趋势总体一致。FOXO3 敲低后，G2/M 期比例下降，而 Cyclin B1 和 CDK1 表达部分恢复，进一步提示 FOXO3 可能参与茯苓酸介导的细胞周期调控。

除直接影响肿瘤细胞增殖和侵袭外，本研究还观察到茯苓酸处理后 AGS 细胞培养上清中 PD-L1、TGF-β1 和 IL-6 质量浓度降低，而 MHC-Ⅰ质量浓度升高；FOXO3 敲低后上述变化部分逆转。这些结果提示，茯苓酸可能影响 AGS 细胞免疫相关分子的产生或释放。既往研究[15]提示，茯苓酸还可能影响肿瘤免疫相关调控，本研究结果为这一猜想提供了一定实验依据。然而，由于本研究仅检测了 AGS 细胞培养上清中的相关分子，且未建立肿瘤细胞与免疫细胞共培养体系，也未直接评价 T 细胞活化、细胞毒作用或抗原提呈功能，因此目前尚不能据此直接得出“茯苓酸增强抗肿瘤免疫应答”或“改善肿瘤免疫微环境”的结论。其免疫调节作用仍需通过细胞表面分子检测、免疫细胞功能实验及体内研究进一步验证。

FOXO3 和 FOXM 均参与肿瘤细胞增殖、细胞周期及应激反应等过程，二者之间存在复杂的功能调控关系[16-17]。其中，FOXO3 具有一定的抑癌作用，其表达降低与胃癌细胞恶性程度升高有关[18]；FOXM1 则是一种与细胞周期进程、侵袭及肿瘤进展密切相关的转录因子，其高表达与患者不良预后密切相关[19]。已有研究证实，FOXO3 与 FOXM1 的拮抗调控参与肿瘤药物干预过程。红景天苷、吉马酮分别在

卵巢癌、甲状腺癌耐药模型中，可通过上调FOXO3、抑制FOXM1及耐药相关蛋白逆转肿瘤恶性表型，敲低FOXO3部分抵消该药效[20-21]。本研究在AGS细胞中发现，茯苓酸可升高FOXO3总蛋白水平并降低FOXM1表达；敲低FOXO3后FOXM1表达回升，茯苓酸对细胞增殖、侵袭及细胞周期的调控作用随之部分恢复，提示茯苓酸调控AGS细胞的机制与既往报道的FOXO3-FOXM1轴模式相近。但本研究仅检测总蛋白表达，尚未考察FOXO3核质分布、转录活性及上游AKT信号，相关内容有待后续验证。

综上，本研究结果表明，茯苓酸可抑制AGS细胞增殖和侵袭，诱导G2/M期细胞周期阻滞，并影响细胞培养上清中免疫相关分子水平；上述效应伴随FOXO3表达上调和FOXM1表达降低，且FOXO3敲低可部分逆转这些变化，提示FOXO3-FOXM1轴可能参与茯苓酸对AGS细胞恶性生物学行为的调控。然而，本研究仍存在一定局限性：(1)当前仅基于AGS单一胃癌细胞，还需在其他胃癌细胞中验证结果的稳定性；(2)缺乏动物实验验证，尚不能推及体内抗肿瘤效果；(3)未从核转位、转录活性等层面明确FOXO3功能状态，也未证明FOXO3对FOXM1的直接转录调控关系。后续研究可围绕上述问题开展进一步验证，以完善茯苓酸调控FOXO3-FOXM1轴的作用机制，并为其抗胃癌作用的进一步研究提供实验依据。

[参 考 文 献]

[1] 贾祺, 咸小红, 李泱润, 等. MAGE-A家族在胃癌中作用的研究进展[J]. 中南大学学报(医学版), 2023, 48(2): 260-267. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2023.220042.

[2] 李辉章, 朱洪挺, 陈瑶瑶, 等. 浙江省肿瘤登记地区2008—2019年胃癌5年生存率分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2024, 46(9): 862-870. DOI:10.3760/cma.j.cn112138-20210821-005 71.

[3] Huang C G, Zhou X Q, Zheng A F, et al. eIF6 promotes gastric cancer proliferation and invasion by regulating cell cycle[J]. Dig Dis Sci, 2024, 69(9): 3249-3260. DOI:10.1007/s10620-024-08464-z.

[4] Yang T, Tian S J, Wang Y H, et al. Antitumor activity of pachymic acid in cervical cancer through inducing endoplasmic reticulum stress, mitochondrial dysfunction, and activating the AMPK pathway[J]. Environ Toxicol, 2022, 37(9): 2121-2132. DOI:10.1002/tox.23555.

[5] Nie J L, Zhang H R, Li X F, et al. Pachymic acid promotes ferroptosis and inhibits gastric cancer progression by suppressing the PDGFRB-mediated PI3K/Akt pathway[J]. Heliyon, 2024, 10 (20): e38800. DOI:10.1016/j.heliyon.2024.e38800.

[6] Yao S, Fan L Y, Lam E W. The FOXO3-FOXM1 axis: a key cancer drug target and a modulator of cancer drug resistance[J]. Semin Cancer Biol, 2018, 50: 77-89. DOI:10.1016/j.semcancer.2017.11.018.

[7] Lu Y Y, Fang Y Y, Wang S S, et al. Cepharanthine sensitizes gastric cancer cells to chemotherapy by targeting TRIB3-FOXO3-FOXM1 axis to inhibit autophagy[J]. Phytomedicine, 2024, 135: 156161. DOI:10.1016/j.phymed.2024.156161.

[8] 梁华元, 谢青, 孙孝文, 等. 晚期胃癌转化治疗后行手术干预的调查研究[J]. 中华消化外科杂志, 2024, 23(11): 1430-1436. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20241014-00448.

[9] Shan Z X, Liu Y F. Harnessing glycolysis in gastric cancer: molecular targets, therapeutic strategies, and clinical horizons[J]. Front Immunol, 2025, 16: 1628937. DOI:10.3389/fimmu.2025.1628937.

[10] Doan C C, Le T L, Ho N Q C, et al. Cytotoxic effects of the standardized extract from Curcuma aromatica Salisb. rhizomes *via* induction of mitochondria-mediated caspase-dependent apoptotic pathway and p21-mediated G0/G1 cell cycle arrest on human gastric cancer AGS cells[J]. J Toxicol Environ Health A, 2025, 88 (6): 227-249. DOI:10.1080/15287394.2024.2433577.

[11] Lu C W, Cai D F, Ma J. Pachymic acid sensitizes gastric cancer cells to radiation therapy by upregulating Bax through hypoxia[J]. Am J Chin Med, 2018, 46(4): 875-890. DOI:10.1142/S0192415X18 500465.

[12] Sun K X, Xia H W. Pachymic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in gastric cancer SGC-7901 cells[J]. Oncol Lett, 2018, 16(2): 2517-2524. DOI:10.3892/ol.2018.8899.

[13] 罗园园, 冯心怡, 褚泽文, 等. 茯苓酸通过Smads调控MMP/TIMP平衡抑制肾癌细胞侵袭转移的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(7): 76-83. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.202202127.

[14] 孙桂霞, 张冬丽, 曹芹雪, 等. 茯苓酸调节NF-κB途径诱导宫颈癌细胞凋亡和细胞周期停滞[J]. 中药材, 2023, 46(12): 3109-3113. DOI:10.13863/j.issn1001-4454.2023.12.033.

[15] Liu M, Zheng L, Zhang Y, et al. Mechanistic insights into pachymic acid's action on triple-negative breast cancer through TOP2A targeting [J]. Sci Rep, 2025, 15: 2856. DOI: 10.1038/s41598-025-87286-z.

[16] Cutano V, Chia M L, Wigmore E M, et al. The interplay between FOXO3 and FOXM1 influences sensitivity to AKT inhibition in PIK3CA and PIK3CA/PTEN altered estrogen receptor positive breast cancer[J]. NPJ Breast Cancer, 2025, 11: 36. DOI: 10.1038/s41523-025-00752-9.

[17] Zhong M, Fang Z, Zou J T, et al. SPIN1 accelerates tumorigenesis and confers radioresistance in non-small cell lung cancer by orchestrating the FOXO3a/FOXM1 axis[J]. Cell Death Dis, 2024, 15(11): 832. DOI: 10.1038/s41419-024-07225-0.

[18] Tsuji T, Maeda Y, Kita K, et al. FOXO3 is a latent tumor suppressor for FOXO3-positive and cytoplasmic-type gastric cancer cells[J]. Oncogene, 2021, 40(17): 3072-3086. DOI: 10.1038/s41388-021-01757-x.

[19] Tang Q Y, Liu C, Zhang S W, et al. FOXM1 increases hTERT protein stability and indicates poor prognosis in gastric cancer[J]. Neoplasia, 2023, 36: 100863. DOI:10.1016/j.neo.2022.100863.

[20] 姜波玲，冯春，郑嵘. 红景天苷调节FOXO3-FOXM1信号轴对卵巢癌细胞化疗耐药性的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2026, 38 (2): 262-272. DOI: 10.16333/j.1001-6880.2026.2.004

[21] 王洪涛，马正，单四新，等. 吉马酮通过FOXO3-FOXM1轴调控甲状腺癌BCPAP细胞的增殖,迁移和化疗耐药[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2024, 31(9): 871-877. DOI:10.3872j.issn.1007-385x.2024.09.005

[收稿日期] 2026-04-30 [修回日期] 2026-07-29
[本文编辑] 陈怡宁