重楼皂苷Ⅵ对脑胶质瘤细胞增殖和凋亡的影响及潜在机制Δ

王　芳[1*]，陆云阳[2]，李韦韦[3]，姚敏娜[3#]（1.陕西能源职业技术学院医学技术学院，陕西 咸阳　712000；2.空军军医大学中药与天然药物学教研室，西安　710032；3.空军军医大学西京医院药剂科，西安　710032）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）14-1686-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.14.05

摘　要　目的　探讨重楼皂苷Ⅵ（PPⅥ）对脑胶质瘤细胞增殖和凋亡的影响及潜在机制。**方法**　以人脑胶质瘤LN229细胞为对象，采用MTT法检测不同浓度PPⅥ[0（对照组）、1、2、4、8、16、32、64 μmol/L]作用不同时间（24、48、72 h）后的细胞存活率，采用克隆形成实验检测不同浓度PPⅥ[0（对照组）、2、4、8 μmol/L]作用14 d后的细胞克隆数和克隆形成率，采用流式细胞术和Western blot法分别检测不同浓度PPⅥ[0（对照组）、4、8 μmol/L]作用24 h后的细胞凋亡率和凋亡相关蛋白[B细胞淋巴瘤2（Bcl-2）、Bcl-2相关X蛋白（Bax）、切割的胱天蛋白酶3（cleaved caspase-3）]、Fas/Fas配体（FasL）死亡受体通路相关蛋白、蛋白激酶B（又称Akt）/糖原合成激酶3β（GSK-3β）通路相关蛋白的表达情况。**结果**　与对照组比较，PPⅥ各浓度组细胞的存活率、克隆数和克隆形成率、Bcl-2蛋白的表达水平和Akt、GSK-3β蛋白的磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）；细胞凋亡率，Bax、cleaved caspase-3蛋白和Fas、FasL、cleaved caspase-8蛋白的表达水平均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。**结论**　PPⅥ可抑制人胶质瘤LN229细胞的增殖并诱导其凋亡，这种作用可能与激活Fas/FasL死亡受体通路和抑制Akt/GSK-3β通路有关。

关键词　重楼皂苷Ⅵ；人脑胶质瘤细胞；增殖；凋亡；Fas/Fas配体死亡受体通路；蛋白激酶B/糖原合成激酶3β通路

Effects of polyphyllin Ⅵ on the proliferation and apoptosis of glioma cells and potential mechanism

WANG Fang[1], LU Yunyang[2], LI Weiwei[3], YAO Minna[3] (1. School of Medical Technology, Shaanxi Energy Institute, Shaanxi Xianyang 712000, China; 2. Dept. of Traditional Chinese Medicine and Natural Pharmacology, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; 3. Dept. of Pharmacy, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effects of polyphyllin Ⅵ (PPⅥ) on the proliferation and apoptosis of glioma cells and potential mechanism. **METHODS** Using human glioma LN229 cells as objects, MTT assay was used to detect the survival rate after treated with different concentrations of PPⅥ [0 (control group), 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 μmol/L] for different time (24, 48, 72 h). The clone formation experiments were adopted to detect the number of cell clones and clone formation rate after being treated with different concentrations of PPⅥ [0 (control group), 2, 4, 8 μmol/L] for 14 days. The flow cytometry and Western blot assay were used to detect the apoptotic rate of cells, the expressions of apoptosis-related protein [B cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), cleaved caspase-3], and the expressions of related proteins of Fas/Fas ligand (FasL) death receptor pathway and protein kinase B (Akt)/glycogen synthesis kinase-3β (GSK-3β) pathway after being treated with different concentrations of PPⅥ [0(control group), 4, 8 μmol/L] for 24 h. **RESULTS** Compared with the control group, the survival rate of cells, the number of clones and clone formation rate, the protein expression of Bcl-2, and the phosphorylation levels of Akt and GSK-3β protein were decreased significantly in different concentration groups of PPⅥ ($P<0.05$ or $P<0.01$). The apoptotic rate, the protein expressions of Bax, cleaved caspase-3, Fas, FasL and cleaved caspase-8 were increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSIONS** PPⅥ can inhibit the proliferation and induce the apoptosis of human glioma LN229 cells, which may be related to the activation of the Fas/FasL death receptor pathway and the inhibition of the Akt/GSK-3β pathway.

KEYWORDS　polyphyllin Ⅵ; human glioma cell; proliferation; apoptosis; Fas/FasL death receptor pathway; Akt/GSK-3β pathway

脑胶质瘤是一种源于神经胶质细胞的肿瘤，约占颅内肿瘤所有分型的51%[1]，其恶性程度高、生长速度快、侵袭性和术后复发率高，患者的五年生存率低于10%[2]，是临床常见且较具有攻击性的原发性脑部恶性肿瘤之

Δ**基金项目**　国家自然青年科学基金项目（No.81903862）

＊**第一作者**　副教授，博士。研究方向：中药药理学。E-mail：wangfang3463704@163.com

＃**通信作者**　副教授，硕士。研究方向：中药药理学。电话：029-84775475。E-mail：yaona3698@163.com

一。现阶段，脑胶质瘤的临床治疗以手术为主，同时结合化学疗法[3]，但手术无法完全根除病灶，化学疗法存在副作用大、易发生耐药等不足，使得相关治疗无法获得理想效果，给患者家庭和社会造成了巨大负担。

天然药物及其活性成分具有作用靶点多、长期使用副作用小等独特优势，故从中挖掘脑胶质瘤的潜在治疗药物具有重要意义[4]。重楼皂苷Ⅵ（polyphyllin Ⅵ，PPⅥ）是从中药重楼中分离出的一种甾体皂苷类成分，对骨肉瘤[5]、肺癌[6]、肝癌[7]、食管癌[8]、急性髓性白血病[9]、结肠癌[10]等肿瘤细胞的增殖、转移具有抑制作用，并可促进上述细胞的凋亡，表现出良好的多靶点效应[11]，可能是一种潜在的多靶点抗癌药物。研究发现，PPⅥ可促进脑胶质瘤细胞的凋亡和自噬，其作用机制与激活c-Jun氨基末端激酶（c-Jun N-terminal kinase，JNK）和p38丝裂原激活的蛋白激酶（p38 mitogen-activated protein kinase，p38 MAPK）通路有关[12]。但脑胶质瘤作为高度特异性肿瘤必然受多种通路的调节，其中蛋白激酶B（又称Akt）/糖原合成激酶3β（glycogen synthase kinase-3β，GSK-3β）信号通路和Fas/Fas配体（Fas ligand，FasL）死亡受体通路与其发生、发展密切相关[13-14]。基于此，本研究以人脑胶质瘤细胞LN229为对象，并基于Akt/GSK-3β和Fas/FasL通路初步探讨PPⅥ抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡的潜在作用机制，为脑胶质瘤治疗药物的开发提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括BPN-80CRH型CO_2细胞培养箱（上海一恒科学仪器有限公司），DYY-6D型电泳仪（北京六一仪器有限公司），Attune NxT型流式细胞仪（美国Beckman Coulter公司），iBright FL1500型化学发光凝胶成像系统、Varioskan LUX型多功能酶标仪[赛默飞世尔科技（中国）有限公司]、Eclipse 80i型倒置显微镜（日本Nikon公司）等。

1.2 主要药品及试剂

PPⅥ对照品（批号55916-51-3，纯度≥98%）购自成都德思特生物技术有限公司；胰蛋白酶-乙二胺四乙酸（EDTA）消化液（批号9002-07-7）、伊红染液（批号G1100）、二甲基亚砜（DMSO，批号D8371）、MTT试剂（批号M8180）均购自北京索莱宝科技有限公司；胎牛血清（批号C0232）购自美国Gibco公司；LN229细胞专用培养基（批号CM0578）购自武汉普诺赛生命科技有限公司；兔源切割的胱天蛋白酶3（cleaved caspase-3）多克隆抗体（批号9661）、兔源cleaved caspase-8单克隆抗体（批号9496）、兔源FasL单克隆抗体（批号68405）、兔源Fas单克隆抗体（批号4233）、兔源GSK-3β多克隆抗体（批号9325）、兔源磷酸化GSK-3β（p-GSK-3β）多克隆抗体（批号9336）、兔源Akt单克隆抗体（批号4691）、兔源磷酸化Akt（p-Akt）单克隆抗体（批号4060）均购自美国Cell Signaling Technology公司；兔源B细胞淋巴瘤2（B cell lymphoma-2，Bcl-2）多克隆抗体（批号GB113375）、兔源Bcl-2相关X蛋白（Bcl-2 associated X protein，Bax）多克隆抗体（批号GB114122）、兔源β-肌动蛋白（β-actin）多克隆抗体（批号GB11001）、BCA蛋白定量检测试剂盒（批号G2026）均购自武汉塞维尔生物科技有限公司；凋亡检测试剂盒（批号AP101-100）购自杭州联科生物技术股份有限公司。

1.3 细胞

人脑胶质瘤LN229细胞（编号BNCC341218）购自北京北纳创联生物技术研究院。

2 方法

2.1 细胞培养

取人脑胶质瘤LN229细胞，接种于专用培养基中，于37 ℃、5%CO_2条件（下同）下培养。每2 d更换1次培养基，取对数生长期的细胞进行后续实验。

2.2 PPⅥ对细胞增殖能力影响的检测

取对数生长期的细胞，用培养基调整细胞密度至5×10^4个/mL，按100 μL/孔接种于96孔板中，培养24 h后，将细胞分为空白组（不加细胞与药物，只加培养基）、对照组（0.1%DMSO+培养基）、不同浓度PPⅥ组（分别含PPⅥ 1、2、4、8、16、32、64 μmol/L，浓度依据前期预实验结果和相关文献[12]设置），每组设5个复孔。分别培养24、48、72 h后，弃去培养基，加入0.5 mg/mL的MTT溶液100 μL，孵育4 h，按150 μL/孔加入DMSO，混匀。使用酶标仪于490 nm波长下测定每孔的吸光度（A）值并按下式计算各组细胞的存活率：存活率（%）=（实验组A值－空白组A值）/（对照组A值－空白组A值）×100%；同时，使用GraphPad Prism 5.0软件计算PPⅥ的半数抑制浓度（median inhibitory concentration，IC_{50}）。

2.3 PPⅥ对细胞克隆形成能力影响的检测

取对数生长期的细胞，按500个/孔接种于6孔板中，培养24 h。将细胞分为对照组和不同浓度PPⅥ组（分别含PPⅥ 2、4、8 μmol/L，浓度参考“2.2”项下结果设置），每组设3个复孔。每隔2 d更换1次培养基并重新给药。培养14 d后，弃去培养基，细胞用磷酸盐缓冲液清洗3次，再用预冷的甲醇固定15 min；移除甲醇，加入0.1%结晶紫染液染色10 min；移除结晶紫染液，用水清洗2次，静置干燥后，使用显微镜对细胞克隆数（>50个细胞）进行记录，并按下式计算克隆形成率：克隆形成率（%）=克隆数/细胞接种数×100%。

2.4 PPⅥ对细胞凋亡率影响的检测

取对数生长期的细胞，按5×10^{5}个/孔接种于6孔板中，培养24 h。将细胞分为对照组和不同浓度PPⅥ组（分别含PPⅥ 4、8 μmol/L，浓度参考“2.2”项下结果设置），每组设3个复孔。培养24 h后，消化并收集细胞，用磷酸盐缓冲液清洗5 min×2次，并用培养基调整细胞密度至1×10^{6}个/mL。取上述细胞悬液100 μL置于5 mL组织培养管中，加入Annexin-Ⅴ/FITC试剂10 μL，室温避光孵育15 min；加入PI染液5 μL，混匀，室温避光孵育10 min，使用流式细胞仪检测各组细胞的凋亡率。

2.5 PPⅥ对细胞中凋亡相关蛋白、通路相关蛋白表达影响的检测

细胞培养及药物处理同“2.4”项。培养24 h后，提取各组细胞的总蛋白并定量，经变性后进行电泳分离、转膜、封闭。分别加入凋亡相关蛋白（Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3）、Fas/FasL通路相关蛋白（Fas、FasL、cleaved caspase-8）、Akt/GSK-3β通路相关蛋白（Akt、p-Akt、GSK-3β、p-GSK-3β）和内参蛋白（β-actin）一抗（稀释比例均为1∶1 000），4 ℃孵育过夜；加入相应二抗（稀释比例为1∶1 000），室温孵育1 h；避光加入ECL化学发光液，孵育1～2 min曝光显影，并置于化学发光凝胶成像系统下成像。使用Image J软件分析各条带的灰度值，以Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3、Fas、FasL、cleaved caspase-8蛋白与内参蛋白条带的灰度值比值表示上述蛋白的表达水平，以p-Akt与Akt、p-GSK-3β与GSK-3β蛋白条带的灰度值比值表示Akt、GSK-3β蛋白的磷酸化水平。

2.6 统计学方法

采用GraphPad Prism 5.0软件对数据进行统计分析。数据以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

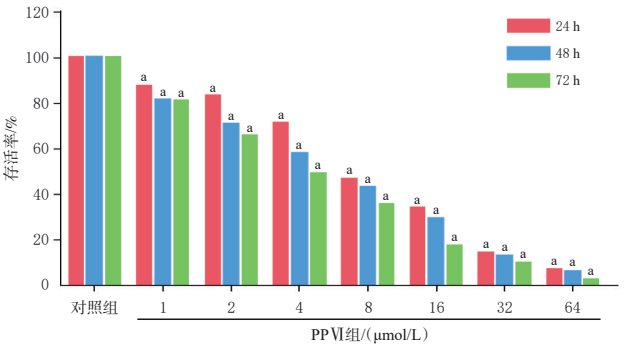
3 结果

3.1 PPⅥ对细胞增殖能力的影响

与对照组比较，不同浓度PPⅥ（1、2、4、8、16、32、64 μmol/L）分别干预不同时间（24、48、72 h）后，细胞的存活率均显著降低（$P<0.01$），且有一定的浓度-时间依赖趋势；IC_{50}分别为（8.05±1.03）μmol/L（24 h）、（5.47±0.28）μmol/L（48 h）、（4.09±1.24）μmol/L（72 h）。结果见图1。

3.2 PPⅥ对细胞克隆形成能力的影响

经不同浓度（2、4、8 μmol/L）的PPⅥ干预后，各组细胞的克隆数和克隆形成率均较对照组显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$），且这种作用有一定的浓度依赖趋势。结果见图2、表1。



a：与同时间点对照组比较，$P<0.01$。

图1 PPⅥ对细胞增殖能力的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

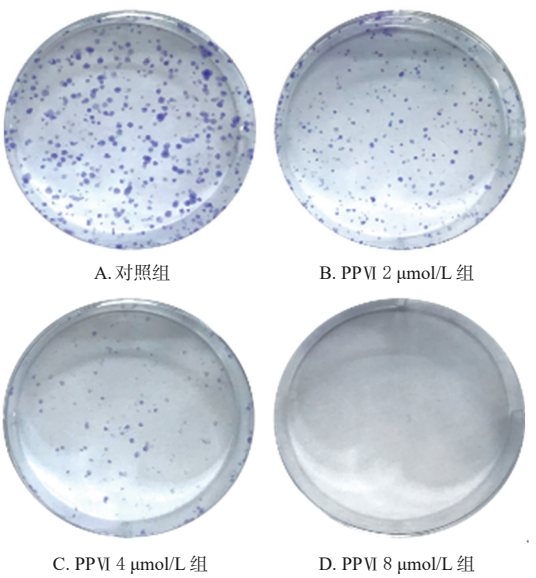


图2 PPⅥ对细胞克隆形成能力的影响

表1 PPⅥ对细胞克隆数和克隆形成率的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	克隆数	克隆形成率/%
对照组	259.67±45.45	51.93±9.09
PPⅥ 2 μmol/L组	168.33±32.50^a	33.67±6.50^a
PPⅥ 4 μmol/L组	68.67±35.92^b	13.73±7.18^b
PPⅥ 8 μmol/L组	22.67±16.62^b	4.53±3.32^b

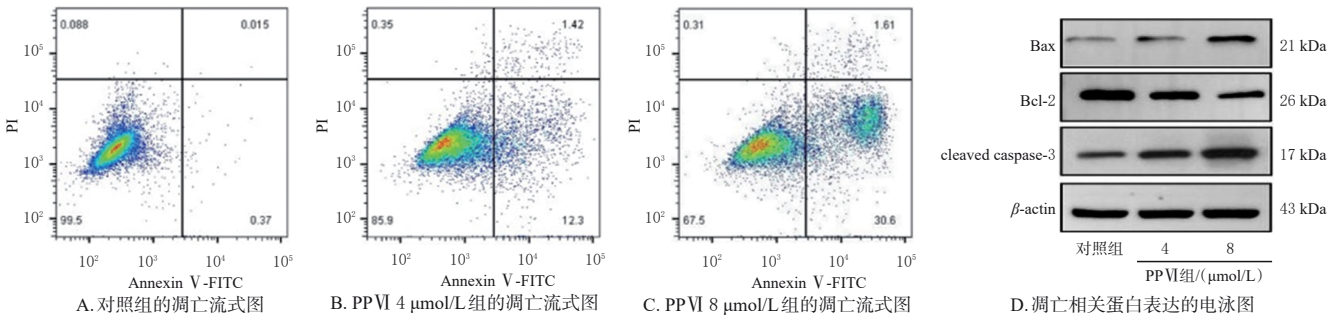
a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与对照组比较，$P<0.01$。

3.3 PPⅥ对细胞凋亡及凋亡相关蛋白表达的影响

流式细胞仪检测结果显示，随着PPⅥ浓度的增加，细胞凋亡有增多的趋势，各药物组的细胞凋亡率均较对照组显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。凋亡相关蛋白表达检测结果显示，与对照组比较，各药物组细胞中Bax、cleaved caspase-3蛋白的表达水平均显著升高，Bcl-2蛋白的表达水平均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见图3、表2。

3.4 PPⅥ对细胞Fas/FasL、Akt/GSK-3β通路相关蛋白表达的影响

与对照组比较，各药物组细胞中Fas、FasL、cleaved caspase-8蛋白的表达水平均显著升高，Akt、GSK-3β蛋白的磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见图4、表3。



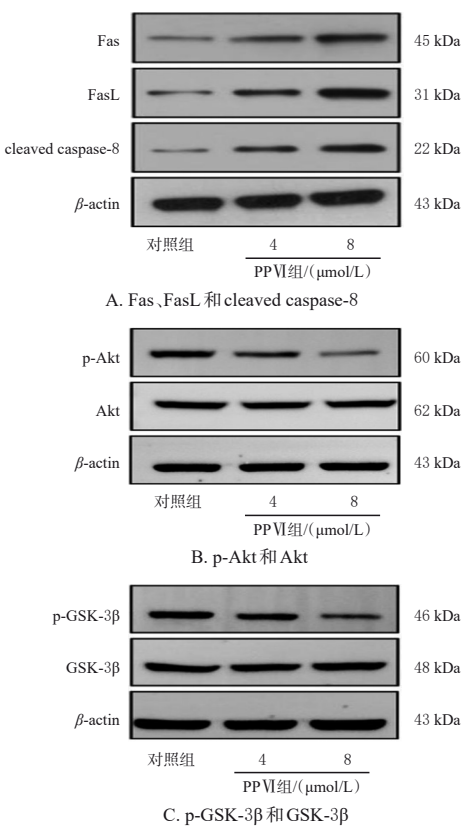
A. 对照组的凋亡流式图　B. PPⅥ 4 μmol/L组的凋亡流式图　C. PPⅥ 8 μmol/L组的凋亡流式图　D. 凋亡相关蛋白表达的电泳图

图3　PPⅥ对细胞凋亡影响的流式图及对凋亡相关蛋白表达影响的电泳图

表2　PPⅥ对细胞凋亡及凋亡相关蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	细胞凋亡率/%	凋亡相关蛋白		
		Bax	Bcl-2	cleaved caspase-3
对照组	2.87±2.34	0.14±0.02	1.32±0.03	0.60±0.04
PPⅥ 4 μmol/L组	17.28±3.58[a]	0.26±0.04[a]	0.93±0.06[b]	1.19±0.02[a]
PPⅥ 8 μmol/L组	39.06±6.66[b]	0.67±0.05[b]	0.54±0.02[b]	2.96±0.03[b]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与对照组比较，$P<0.01$。



A. Fas、FasL和cleaved caspase-8　B. p-Akt和Akt　C. p-GSK-3β和GSK-3β

图4　PPⅥ对细胞Fas/FasL、Akt/GSK-3β通路相关蛋白表达影响的电泳图

表3　PPⅥ对细胞Fas/FasL、Akt/GSK-3β通路相关蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	Fas/FasL通路			Akt/GSK-3β通路	
	Fas	FasL	cleaved caspase-8	p-Akt/Akt	p-GSK-3β/GSK-3β
对照组	0.15±0.06	0.13±0.02	0.09±0.02	1.77±0.03	1.17±0.06
PPⅥ 4 μmol/L组	0.39±0.03[a]	0.37±0.04[a]	0.37±0.06[b]	1.08±0.02[a]	0.98±0.05[b]
PPⅥ 8 μmol/L组	0.61±0.04[b]	0.68±0.02[b]	0.53±0.03[b]	0.42±0.07[b]	0.42±0.07[b]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与对照组比较，$P<0.01$。

4　讨论

PPⅥ是从中药重楼中提取出来的一种甾体皂苷类活性成分，具有抗肿瘤、镇静镇痛、抗炎和调节免疫等作用[11,15]。研究发现，PPⅥ对脑胶质瘤细胞有一定的抑制作用[12—13]。脑胶质瘤是较为常见的成人中枢神经系统原发性恶性肿瘤，发病率和病死率均较高，且异常增殖和异常分化是其基本特征，故增殖抑制能力是评价抗脑胶质瘤药物干预效果的重要指标之一[3]。本研究结果显示，PPⅥ可使人脑胶质瘤LN229细胞的存活率下降，并有一定的浓度-时间依赖趋势；同时，该成分能抑制细胞的克隆形成，表明其对人脑胶质瘤LN229细胞的增殖具有抑制作用。

肿瘤细胞一般表现为失控性增殖，所以诱导其死亡是肿瘤治疗策略的一个重要方向。细胞凋亡是一种受严格控制的细胞死亡模式，Bcl-2蛋白酶家族与其密切相关：当细胞受到信号分子刺激后，Bax被激活而与Bcl-2形成多聚体，最终激活caspase-3等凋亡执行蛋白，激活后的caspase-3被切割为cleaved caspase-3，后者能破坏细胞功能，诱导细胞凋亡[16—17]。本研究首先应用流式细胞术检测了细胞凋亡情况，结果显示，与对照组比较，PPⅥ各浓度组细胞的凋亡率均显著升高，且有随药物浓度增加而升高的趋势。随后，本研究应用Western blot法分析了PPⅥ对细胞凋亡相关蛋白表达的影响，结果显示，与对照组比较，PPⅥ各浓度组细胞中Bax、cleaved caspase-3蛋白的表达水平均显著升高，Bcl-2蛋白的表达水平均显著降低，表明PPⅥ具有诱导LN229细胞凋亡的作用。

Fas/FasL死亡受体通路在细胞凋亡中发挥着重要的作用：Fas与配体FasL结合后，可发生构象改变，随后在膜内区域通过DD结构域连接接头蛋白FADD将caspase-8活化为cleaved caspase-8，后者可直接切割和激活下游的caspase-7、caspase-3，最终通过caspase信号级联反应来诱导细胞凋亡的发生[18]。本研究结果显示，PPⅥ各浓度组细胞中Fas、FasL、cleaved caspase-8蛋白的表达水平均较对照组显著升高，提示PPⅥ诱导LN229细胞凋亡的作用可能与激活Fas/FasL死亡受体通路相关。

Akt/GSK-3β通路可调控细胞增殖和凋亡[19]。活化的Akt可通过促进下游底物（如GSK-3β）的磷酸化来参

与细胞增殖、分化和凋亡等多种生物学过程[20]。研究指出，沉默的GSK-3β能诱导脑胶质瘤细胞凋亡并降低其存活率和增殖率[21]。可见，Akt/GSK-3β通路有望成为肿瘤治疗的潜在靶点。此外已有研究证实，一些天然物质（如芳樟醇、大车前苷等）能通过抑制Akt/GSK-3β通路来诱导肿瘤细胞凋亡[22—23]。本研究结果显示，不同浓度的PPⅥ均可显著下调Akt、GSK-3β蛋白的磷酸化水平，表明PPⅥ诱导LN229细胞凋亡的作用可能与抑制Akt/GSK-3β通路有关。

综上所述，PPⅥ能够抑制人脑胶质瘤LN229细胞的增殖，并可促进其凋亡，其机制可能与其激活Fas/FasL死亡受体通路和抑制Akt/GSK-3β通路有关。但本研究仅从细胞层面初步探讨了PPⅥ对脑胶质瘤细胞的影响，下一步将利用动物模型进一步验证。

参考文献

[1] JOSHI S, COOKE J R, CHAN D K, et al. Liposome size and charge optimization for intraarterial delivery to gliomas[J]. Drug Deliv Transl Res, 2016, 6(3): 225-233.

[2] CHUNTOVA P, DOWNEY K M, HEGDE B, et al. Genetically engineered T-cells for malignant glioma: overcoming the barriers to effective immunotherapy[J]. Front Immunol, 2018, 9: 3062.

[3] 刘臣，李根华，李想，等. 脑胶质瘤综合治疗的研究进展[J]. 中国微侵袭神经外科杂志，2019，24(4)：182-185.

[4] 庞晓晨，高丹丹，柴仲秋，等. 中药有效成分抗脑胶质瘤的研究进展及新剂型的应用[J]. 中国全科医学，2019，22(36)：4499-4503.

[5] YUAN Y L, JIANG N, LI Z Y, et al. Polyphyllin Ⅵ induces apoptosis and autophagy in human osteosarcoma cells by modulation of ROS/JNK activation[J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 3091-3103.

[6] TENG J F, MEI Q B, ZHOU X G, et al. Polyphyllin Ⅵ induces caspase-1-mediated pyroptosis via the induction of ROS/NF-κB/NLRP3/GSDMD signal axis in non-small cell lung cancer[J]. Cancers, 2020, 12(1): 193.

[7] LIU Y, DONG X, WANG W P, et al. Molecular mechanisms of apoptosis in HepaRG cell line induced by polyphyllin Ⅵ via the fas death pathway and mitochondrial-dependent pathway[J]. Toxins, 2018, 10(5): 201.

[8] 钟方明，吕望，方礼逵，等. 重楼皂苷Ⅵ激活JNK通路诱导食管癌细胞凋亡和抑制ERK/c-Myc通路调节有氧糖酵解的研究[J]. 中国肿瘤，2020，29(1)：63-69.

[9] 田野，许才明，贾思寻，等. 重楼皂苷Ⅵ诱导急性髓系白血病THP-1细胞凋亡机制研究[J]. 免疫学杂志，2020，36(12)：1099-1104.

[10] 向姝，尹玲，杨林辉. 重楼皂苷Ⅵ对人结肠癌细胞侵袭迁移能力的影响[J]. 胃肠病学和肝病学杂志，2019，28(12)：1397-1402.

[11] 滕林师，张鑫，成颖，等. 重楼皂苷的药理活性及药代动力学研究进展[J]. 西北药学杂志，2019，34(2)：280-283.

[12] LIU W, CHAI Y, HU L B, et al. Polyphyllin Ⅵ induces apoptosis and autophagy via reactive oxygen species mediated JNK and P38 activation in glioma[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 2275-2288.

[13] LIU X H, ZHAO P Y, WANG X J, et al. Celastrol mediates autophagy and apoptosis via the ROS/JNK and Akt/mTOR signaling pathways in glioma cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 184.

[14] MAJEWSKA E, SZELIGA M. Akt/GSK3β signaling in glioblastoma[J]. Neurochem Res, 2017, 42(3): 918-924.

[15] 胡锦丹，王宇. 重楼皂苷抗癌机制的研究进展[J]. 中药药理与临床，2022，38(4)：246-252.

[16] 裴岩岩，李雅，闫春生，等. 黄芪甲苷通过Bax/Bcl-2/Caspase-3信号通路诱导人乳腺癌MCF-7细胞凋亡的机制研究[J]. 中药新药与临床药理，2019，30(9)：1077-1082.

[17] ELBLEHI S S, EL-SAYED Y S, SOLIMAN M M, et al. Date palm pollen extract avert doxorubicin-induced cardiomyopathy fibrosis and associated oxidative/nitrosative stress, inflammatory cascade, and apoptosis-targeting bax/bcl-2 and caspase-3 signaling pathways[J]. Animals, 2021, 11(3): 886.

[18] ALI ABD EL-HAFEEZ A, MARZOUK H M M, ABDELHAMID M A A, et al. Anti-cancer effect of *Hyoscyamus muticus* extract via its activation of fas/FasL-ASK1-p38 pathway[J]. Biotechnol Bioprocess Eng, 2022, 27(5): 833-845.

[19] 陈雷，彭骁，陈锦芳，等. 龙葵成分茄解啶对人大肠癌SW620细胞凋亡和Akt-GSK3β信号的转导作用[J]. 中药材，2021，44(11)：2669-2672.

[20] 薛迪，刘宇超，贾永明，等. 基于PI3K/Akt/GSK3β信号通路的芥子酸抗$A\beta_{1-42}$致PC12细胞损伤的机制研究[J]. 中国药房，2020，31(20)：2519-2523.

[21] 杨盼盼. NOTUM通过Shh/p-GSK3β/β-catenin信号通路促进口腔鳞状细胞癌发生发展的机制探究[D]. 济南：山东大学，2022.

[22] 史光耀. 芳樟醇抑制人结直肠癌SW480细胞生长增殖作用的研究[D]. 西安：西北大学，2022.

[23] WANG Z, ZUO J L, ZHANG L L, et al. Plantamajoside promotes metformin-induced apoptosis, autophagy and proliferation arrest of liver cancer cells via suppressing Akt/GSK3β signaling[J]. Hum Exp Toxicol, 2022, 41: 9603271221078868.

（收稿日期：2022-12-27　修回日期：2023-05-19）

（编辑：张元媛）