

本文引用: 刘 流, 刘 洁, 唐迎港, 张文青, 杨涵中, 何迎春. 异鼠李素通过下调 GAS6/AXL 信号通路抑制鼻咽癌细胞增殖和迁移的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(5): 879-888.

异鼠李素通过下调 GAS6/AXL 信号通路抑制鼻咽癌细胞增殖和迁移的机制研究

刘 流¹, 刘 洁¹, 唐迎港², 张文青¹, 杨涵中¹, 何迎春^{1*}

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南省肿瘤医院, 湖南 长沙 410013

[摘要] **目的** 研究异鼠李素对鼻咽癌 5-8F 和 S18 细胞增殖、迁移的影响及其通过调控生长抑制特异性蛋白 6(GAS6)/AXL 受体酪氨酸激酶(AXL)信号在鼻咽癌中的潜在作用机制。**方法** 将 5-8F 和 S18 细胞分为溶剂对照组、顺铂组($4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)和不同浓度异鼠李素组($1.25, 2.5, 5, 10, 20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。采用 CCK-8 法检测细胞增殖率, Transwell 检测细胞迁移率, 分子对接和分子动力学模拟预测异鼠李素与鼻咽癌相关通路, Western blot 检测细胞中增殖细胞核抗原(PCNA)、波形蛋白(Vimentin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)、GAS6 和 AXL 蛋白的表达。采用皮下注射 S18 细胞构建鼻咽癌裸鼠移植瘤模型, 将造模成功的 24 只小鼠随机分为溶剂对照组(0.2 mL 生理盐水)、顺铂组($4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、异鼠李素低剂量组($20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、异鼠李素高剂量组($40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 每组 6 只, 均干预 21 d。免疫组化检测裸鼠移植瘤组织中 PCNA、Vimentin、N-cadherin、GAS6 和 AXL 蛋白的表达水平。**结果** 与溶剂对照组相比, 不同浓度异鼠李素($1.25, 2.5, 5, 10, 20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)可显著抑制 5-8F 和 S18 细胞增殖($P<0.05$), 异鼠李素($2.5, 10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理组的细胞迁移率明显下降($P<0.05$)。在裸鼠移植瘤模型中, 与溶剂对照组比较, 异鼠李素不同剂量组瘤体体积明显缩小($P<0.01$); 同时, 在鼻咽癌细胞和裸鼠移植瘤组织中, 异鼠李素处理后 PCNA、Vimentin、N-cadherin 蛋白表达水平均下降($P<0.05$), 且 GAS6 和 AXL 蛋白表达水平均降低($P<0.05$)。**结论** 异鼠李素可能通过下调 GAS6/AXL 信号通路, 下调增殖及迁移相关蛋白 PCNA、Vimentin、N-cadherin 的表达水平, 最终抑制鼻咽癌细胞的增殖和迁移。

[关键词] 鼻咽癌; 异鼠李素; 增殖; 迁移; GAS6/AXL 信号通路

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.05.002

Mechanism of isorhamnetin in inhibiting proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cells via downregulation of the GAS6/AXL signaling pathway

LIU Liu¹, LIU Jie¹, TANG Yinggang², ZHANG Wenqing¹, YANG Hanzhong¹, HE Yingchun^{1*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. Hunan Cancer Hospital, Changsha, Hunan 410013, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of isorhamnetin on the proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma 5-8F and S18 cells, as well as its potential mechanism of action in nasopharyngeal carcinoma by regulating the growth

[收稿日期] 2026-02-03

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82505683); 长沙市自然科学基金项目(kq2202037)。

[通信作者] * 何迎春, 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: heyinchun@hnucm.edu.cn。

arrest-specific protein 6/AXL receptor tyrosine kinase (GAS6/AXL) signaling pathway. **Methods** 5-8F and S18 cells were divided into the solvent control group, cisplatin group ($4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), and isorhamnetin groups at different concentrations ($1.25, 2.5, 5, 10, \text{ and } 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Cell proliferation rate was determined by CCK-8 assay, and cell migration rate was examined by Transwell assay. The pathway associating nasopharyngeal carcinoma with isorhamnetin was predicted by molecular docking and molecular dynamics simulations. The protein expression levels of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), Vimentin, N-cadherin, GAS6 and AXL were measured by Western blot. The xenograft tumor model of nasopharyngeal carcinoma were established by subcutaneous injection of S18 cells in nude mice. A total of 24 successfully modeled mice were randomly divided into solvent control group (0.2 mL normal saline), cisplatin group ($4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) as well as low-dose ($20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and high-dose ($40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) isorhamnetin group, with 6 mice in each group. All groups were intervened for 21 days. The protein expression levels of PCNA, Vimentin, N-cadherin, GAS6 and AXL in xenograft tumor tissues of nude mice were determined by immunohistochemistry. **Results** Compared with the solvent control group, different concentrations of isorhamnetin ($1.25, 2.5, 5, 10, 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) significantly inhibited the proliferation of 5-8F and S18 cells ($P<0.05$), and the cell migration rate was markedly decreased in the isorhamnetin groups at 2.5 and $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P<0.05$). In the xenograft model of nude mice, compared with the solvent control group, tumor volume was significantly reduced in the isorhamnetin groups at different doses ($P<0.01$). Meanwhile, in the nasopharyngeal carcinoma cells and xenograft tumor tissues of nude mice treated by isorhamnetin, the protein expression levels of PCNA, Vimentin and N-cadherin were decreased ($P<0.05$), and the protein expression levels of GAS6 and AXL were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** Isorhamnetin may inhibit the proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cells by inhibiting the GAS6/AXL signaling pathway, downregulating the expression levels of proliferation- and migration-related proteins including PCNA, Vimentin, and N-cadherin.

[**Keywords**] nasopharyngeal carcinoma; isorhamnetin; proliferation; migration; GAS6/AXL signaling pathway

鼻咽癌是起源于鼻咽部上皮的恶性肿瘤,好发于咽隐窝及鼻咽侧壁,在东亚及东南亚地区高发,严重威胁人类健康^[1]。目前,临床以放化疗联合方案为鼻咽癌主要治疗手段,虽可在一定程度上延长患者生存期,但化疗药物伴随的毒副作用、肿瘤耐药及复发转移等问题仍严重制约治疗效果与患者生存质量^[2]。因此,探寻高效低毒、作用靶点明确的天然抗肿瘤药物,已成为鼻咽癌临床与基础研究的重点方向。

在此背景下,中药单体因其作用机制独特、毒性较低、能多靶点干预肿瘤进程等特点,在肿瘤研究领域备受关注。其在免疫调节、直接抗肿瘤及逆转耐药等方面的潜力,为鼻咽癌治疗提供了新的可能^[3]。例如,小檗碱已被证实能通过诱导铁死亡——胱氨酸/谷氨酸反向转运体系统(cystine/glutamate antiporter system Xc⁻, System Xc⁻)/谷胱甘肽(glutathione, GSH)/谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)轴抑制鼻咽癌转移^[4],其联合芒柄花黄素可抑制鼻咽癌细胞迁移^[5]。此外,吴茱萸碱也可调控磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)信号通路抑制鼻咽癌细胞增殖和诱导凋亡^[6]。

异鼠李素是一种天然 O-甲基化黄酮类化合物,广泛存在于沙棘、银杏等药食同源植物中^[7]。近年来研究表明,异鼠李素具有多效抗肿瘤活性,能通过调控丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)/信号转导及转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ)/第 10 号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10, PTEN)/Akt 及 PI3K/Akt、核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)等多条信号通路,在胆囊癌、前列腺癌、胃癌、乳腺癌等多种癌症模型中抑制细胞增殖、诱导凋亡并延缓疾病进展^[8-13]。研究证实,异鼠李素可通过逆转上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)进程来抑制肿瘤侵袭转移^[14-15]。近年来,异鼠李素在鼻咽癌中的抗肿瘤作用与分子机制逐渐受到关注。现有研究证实,异鼠李素可通过抑制簇集素(clusterin, CLU)

表达、阻断 PI3K/Akt 信号通路发挥抗鼻咽癌作用^[6];同时能够抑制 Akt-mTOR-70 kDa 核糖体蛋白 S6 激酶(p70 ribosomal protein S6 kinase, p70S6K) 通路活化,诱导肿瘤细胞发生自噬性死亡^[17],并可直接触发细胞凋亡程序^[18],进而抑制鼻咽癌细胞的恶性生物学行为。上述研究从多条经典信号通路初步揭示了异鼠李素抗鼻咽癌的潜在机制,但仍存在靶点不明确、通路调控网络尚未系统阐明等问题。基于此,本研究旨在系统评估异鼠李素对鼻咽癌细胞增殖与迁移能力的影响,并探究其是否通过调控生长停滞特异性蛋白 6(growth arrest-specific protein 6, GAS6)/AXL 受体酪氨酸激酶(AXL receptor tyrosine kinase, AXL)信号通路来发挥抗肿瘤作用。研究成果有望为阐明异鼠李素抗鼻咽癌的分子机制提供新的实验依据,并为鼻咽癌的靶向治疗策略开发提供新的方向。

1 实验材料

1.1 细胞株与动物

人鼻咽癌 5-8F 细胞(批号:BNCC341932)购自商城北纳创联生物科技有限公司;人鼻咽癌 S18 细胞由湖南省肿瘤医院唐发清教授课题组惠赠并由本实验室传代培养。4~5 周龄 BALB/c-nude 小鼠 40 只,体质量(15.0±0.6) g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司(合格证号:4307272311001744883),饲养于湖南中医药大学实验动物中心,经湖南中医药大学实验动物中心伦理委员会批准,伦理批准号:LL2023022212。

1.2 药品与试剂

顺铂(批号:HY-17394;规格 10 mg)购自齐云生物技术有限公司;异鼠李素(批号:I811870;规格 10 mg)购自北京索莱宝科技有限公司;RPMI-1640 培养基(批号:C11875500BT)、胎牛血清(批号:C04001;规格 500 mL)、CCK-8 试剂(批号:CK04)、结晶紫染色液(批号:C0121-500 mL)、RIPA 裂解液(批号:R874811-50 mL)、BCA 蛋白定量试剂盒(批号:23225)、GAS6、AXL、波形蛋白(vimentin)、N-钙黏蛋白(neural cadherin, N-cadherin)、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)(批号:13795-1-AP、139196-1-AP、10366-1-AP、22018-1-AP、

10205-2-AP)均购自长沙市开福区赛雅医疗实验设备经营部。

1.3 主要仪器

CO₂ 培养箱(型号:Heracell 150i,赛默飞世尔公司);全自动酶标分析仪(型号:Synergy H1,美国 BioTek 公司);超低温冰箱(型号:DW-HL388,中科美菱低温科技有限责任公司);冷冻组织破碎机(型号:lyser Pro,莫纳生物科技有限公司);高速冷冻离心机(型号:Microfuge 20R,美国贝克曼库尔特公司);高通量组织细胞破碎仪(型号:Bullet Blender Storm,美国 Next Advance 公司);电泳仪(型号:JY600HE,北京君意东方电泳设备有限公司);多功能荧光成像仪(型号:Odyssey CLX,美国 Licor 公司);电脑生物组织摊烤片机(型号:KD-T,浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);组织包埋机、半自动轮式切片机、烘片机、正置荧光显微镜(型号分别为:HistoCore、HistoCore MULTICUT、HT1220、DM4B,徕卡显微系统有限公司)。

2 方法

2.1 细胞培养及药物配制

人鼻咽癌 5-8F 和 S18 细胞株用 RPMI1640 培养液(含 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素)置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养。异鼠李素粉末用 DMSO 溶解,配制成 200 mmol·L⁻¹ 的储备液,避光保存在-80 ℃冰箱,使用时用培养液稀释。

2.2 鼻咽癌裸鼠移植瘤模型

裸鼠适应性喂养 1 周后随机分为 4 组,每组 6 只。将 S18 鼻咽癌细胞消化,用 PBS 重悬并制成 5×10⁷ 个/mL 的细胞悬液,在每只裸鼠右前侧肢背部皮下注射 100 μL 细胞悬液,待肿瘤隆起于皮肤表面且直径达到 5 mm 则造模成功^[19]。腹腔注射给药 21 d 后停药,次日颈椎脱臼处死,解剖剥离各组肿瘤,拍照。

在实验期间,每天观察裸鼠的饮食、精神状态及活动量,每 3 天称量裸鼠体质量并用游标卡尺测量肿瘤长径(a,mm)和短径(b,mm),根据公式: $V=a \times b^2/2(\text{mm}^3)$ 计算肿瘤体积。

2.3 分组及干预

采用 CCK-8 法检测异鼠李素对鼻咽癌细胞活性的影响,根据此量效关系选取 2.5 μmol·L⁻¹ 和 10 μmol·L⁻¹

异鼠李素作为后续机制研究的低、高剂量,并设置以下分组:溶剂对照组(0.1% DMSO)、顺铂组($4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、异鼠李素低剂量组($2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)以及异鼠李素高剂量组($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。为在体内水平进一步验证异鼠李素的抗肿瘤作用,参考相关文献[20]并依据体表面积等效剂量换算原则确定给药剂量,并设置以下分组:溶剂对照组(0.2 mL 生理盐水)、顺铂组($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、异鼠李素低剂量组($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、异鼠李素高剂量组($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。

2.4 CCK-8 实验检测细胞存活率

将处于对数生长期的 5-8F 和 S18 细胞用培养液制成细胞悬液并在计数板上计数,在 96 孔板中设定 6 个平行孔,以 3×10^3 细胞/孔的数量接种在 6 个平行孔中,另设一组只加 100 μL 培养基不加细胞的空白孔。细胞贴壁并在培养箱中过夜后,加入不同浓度异鼠李素(终浓度分别为 1.25、2.5、5、10、20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)干预 24、48、72 h,然后每孔加入 10 μL CCK-8 试剂,于培养箱中孵育 2 h,检测 450 nm 波长下的吸光度,每组细胞存活率(%) = $(A_{\text{实验孔}} - A_{\text{空白孔}}) / (A_{\text{对照孔}} - A_{\text{空白孔}}) \times 100\%$ 。

2.5 Transwell 实验检测细胞迁移能力

将处于对数生长期的 5-8F 和 S18 细胞用培养液制成细胞悬液,取 500 μL 无血清细胞悬液(5×10^4 细胞)置于上室,下室加入 750 μL 完全培养基(10%胎牛血清)诱导迁移,异鼠李素干预 48 h 后,取出小室,用棉签轻轻擦掉未穿过膜的细胞,甲醛固定 10 min,然后结晶紫染色 10 min,用蒸馏水冲洗数次并风干。于显微镜下随机选取 5 个高倍视野计数穿过膜的细胞数,以平均数作为穿膜细胞数。

2.6 Western blot 实验检测细胞蛋白表达水平

异鼠李素干预 5-8F 和 S18 细胞 48 h 后,按照蛋白提取试剂盒说明书提取细胞总蛋白。采用紫外分光光度计测定蛋白浓度,煮沸变性后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,随后将蛋白转移至 PVDF 膜(电转时间为 4 h)。使用 5%脱脂奶粉在室温下封闭 1 h,分别加入一抗 PCNA(1:1 000)、Vimentin(1:1 000)、N-cadherin(1:1 000)、GAS6(1:1 000)、AXL(1:1 000)及 β -actin(1:5 000),于 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日洗膜 3

次后,加入荧光标记的二抗(1:5 000),避光、室温孵育 1 h,再次洗膜后进行显影。图像采集后通过 ImageJ 软件对目标蛋白进行灰度值分析,计算其相对表达量,以 β -actin 作为内参。

2.7 免疫组化检测组织蛋白表达水平

取各组裸鼠的移植瘤组织,经 4%多聚甲醛固定、常规石蜡包埋并切片(厚度 4 μm)。石蜡切片经脱蜡、梯度乙醇复水后进行抗原修复,随后用 10%山羊血清封闭非特异性结合位点。滴加相应的一抗 PCNA(1:200)、Vimentin(1:200)、N-cadherin(1:100)、GAS6(1:100)及 AXL(1:100),于适宜条件下孵育,用 PBS 洗涤 3 次后加入增强液,随后孵育荧光或酶标记的二抗。再次用 PBS 洗涤 3 次后,滴加 DAB 显色液显色,显色充分后终止反应。接着使用苏木素复染细胞核,经酸性乙醇分化 1 min,碳酸锂返蓝 1 min 后,进行常规脱水、二甲苯透明,并封片。最终在正置荧光显微镜下进行图像采集,并使用 Image Pro Plus 6.0 软件对蛋白阳性表达区域的光密度(OD)进行定量分析。

2.8 统计学分析

所有统计数据采用 SPSS 26.0 结合 GraphPad Prism 9.0 软件进行分析,计量资料服从正态分布,数据用“ $\bar{x} \pm s$ ”描述。完全随机设计的两组样本均数比较:若方差齐性,采用两独立样本 t 检验;若方差不齐,则采用 Welch 校正的 t 检验,即 t' 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 异鼠李素对鼻咽癌细胞增殖的影响

与溶剂对照组比较,异鼠李素各浓度(2.5、5、10、20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)组细胞的增殖率显著降低($P < 0.01$),表明异鼠李素能够抑制鼻咽癌细胞的增殖。详见图 1。

3.2 异鼠李素对鼻咽癌细胞迁移的影响

与溶剂对照组比较,异鼠李素 2.5、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组细胞的迁移数减少,且细胞相对迁移率下降($P < 0.05$, $P < 0.01$)。详见图 2。

3.3 异鼠李素对鼻咽癌细胞增殖、迁移相关蛋白表达水平的影响

与溶剂对照组比较,异鼠李素 2.5、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

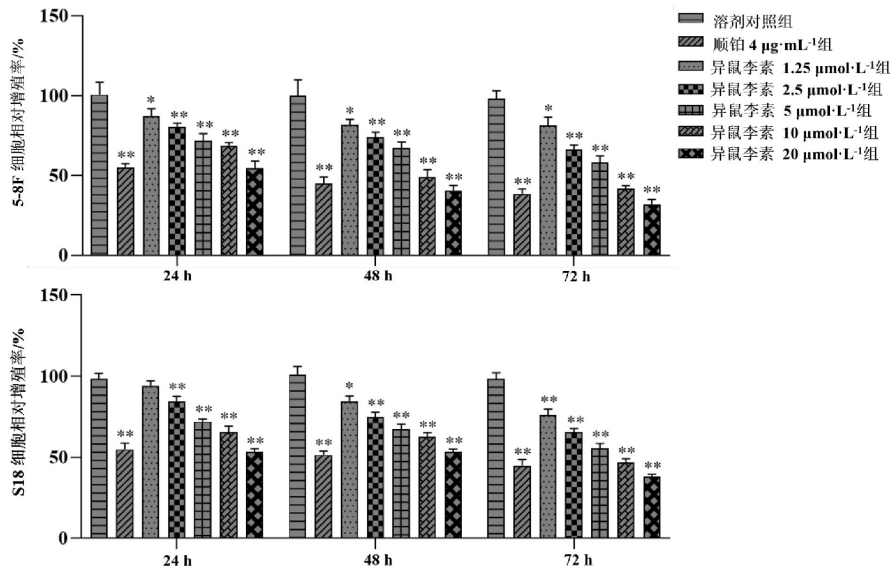


图1 不同浓度的异鼠李素对鼻咽癌细胞增殖的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig.1 Effects of different concentrations of isorhamnetin on the proliferation of nasopharyngeal carcinoma cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)
注:与溶剂对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

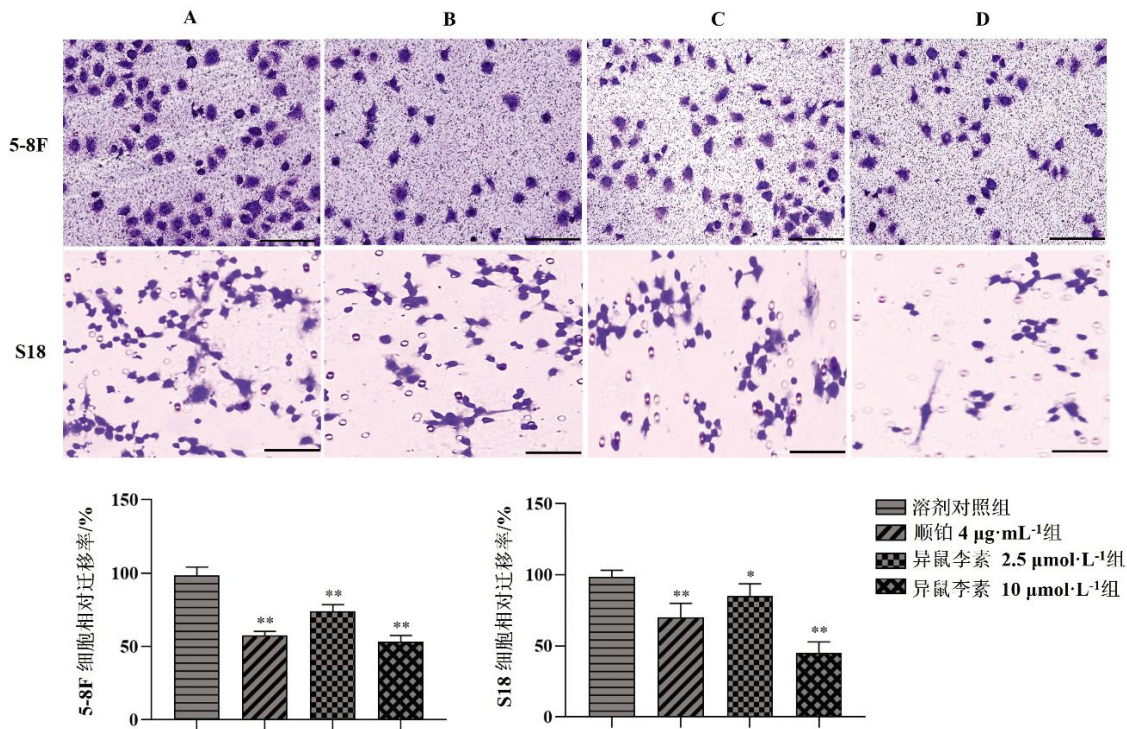


图2 异鼠李素对鼻咽癌细胞迁移的影响(比例尺=200 μm,×100; $\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig.2 Effects of isorhamnetin on the migration of nasopharyngeal carcinoma cells (scale bar=200 μm, ×100, $\bar{x}\pm s, n=3$)
注:A.溶剂对照组;B.顺铂4 μg·mL⁻¹组;C.异鼠李素2.5 μmol·L⁻¹组;D.异鼠李素10 μmol·L⁻¹组。与溶剂对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

组 PCNA、Vimentin、N-cadherin 蛋白表达水平下降 ($P<0.05, P<0.01$)。详见图 3。

3.4 异鼠李素对鼻咽癌裸鼠体质量和移植瘤体格的影响

与溶剂对照组比较,异鼠李素 20、40 mg·kg⁻¹ 组的裸鼠移植瘤体积变小 ($P<0.01$),体质量下降 ($P<$

0.01)。详见图 4。
3.5 异鼠李素对鼻咽癌裸鼠移植瘤组织中增殖、迁移相关蛋白的影响

与溶剂对照组比较,异鼠李素 20、40 mg·kg⁻¹ 组 PCNA、Vimentin、N-cadherin 蛋白表达水平下降 ($P<0.05, P<0.01$)。详见图 5。

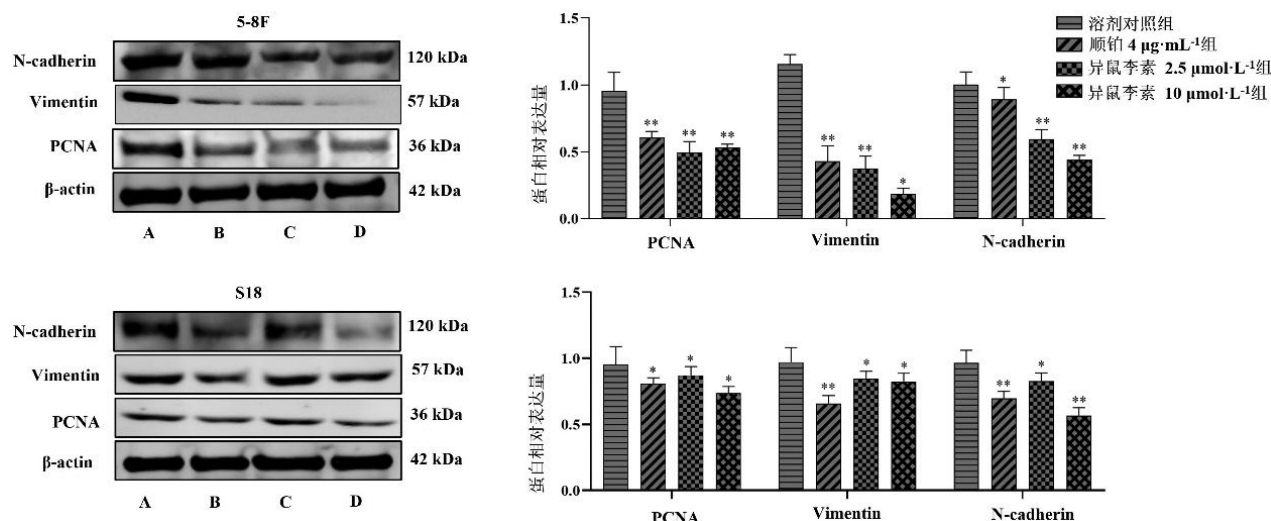


图3 异鼠李素对鼻咽癌细胞增殖及迁移相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.3 Effects of isorhamnetin on the expression of proliferation- and migration-related proteins in nasopharyngeal carcinoma cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:A.溶剂对照组;B.顺铂 $4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组;C.异鼠李素 $2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组;D.异鼠李素 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组。与溶剂对照组比较, $*P<0.05$, $**P<0.01$ 。

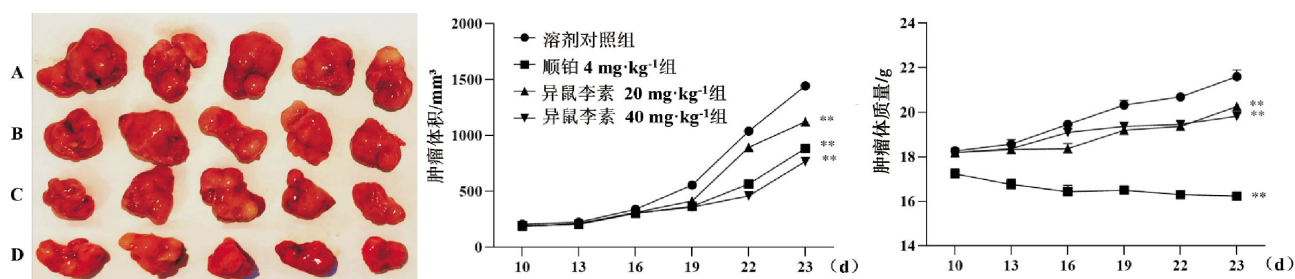


图4 不同浓度的异鼠李素对裸鼠体质量和移植瘤体积的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig.4 Effects of different concentrations of isorhamnetin on the body weight and tumor volume of nude mice ($\bar{x} \pm s, n=6$)

注:A.溶剂对照组;B.顺铂 $4 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;C.异鼠李素 $20 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;D.异鼠李素 $40 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。与溶剂对照组比较, $**P<0.01$ 。

3.6 异鼠李素对鼻咽癌细胞 GAS6/AXL 信号通路蛋白表达水平的影响

与溶剂对照组比较,异鼠李素 2.5 、 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组 GAS6、AXL 蛋白表达水平均显著降低($P<0.01$),而顺铂组 GAS6、AXL 蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图 6。

3.7 异鼠李素对鼻咽癌裸鼠移植瘤组织中 GAS6/AXL 信号通路蛋白表达水平的影响

与溶剂对照组比较,异鼠李素 20 、 $40 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组 GAS6、AXL 蛋白表达水平均显著降低($P<0.01$),而顺铂组 GAS6、AXL 蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图 7。

4 讨论

近年来,鼻咽癌具有恶性程度较高的生物学行为,且早期临床表现隐匿,因此相当比例患者在初诊时已处于局部晚期阶段。对于晚期患者而言,放化疗疗效仍存在一定局限,且在发生复发或远处转移后总体预后显著下降^[21]。因此,探索更有效且毒性更低新型干预策略,尤其是针对关键分子通路的精准治疗手段,已成为鼻咽癌治疗研究的重要方向。既往研究提示,异鼠李素可抑制鼻咽癌细胞增殖并诱导其凋亡^[18]。在此基础上,本研究通过体外细胞实验及体内裸鼠移植瘤模型进一步发现,异鼠李素

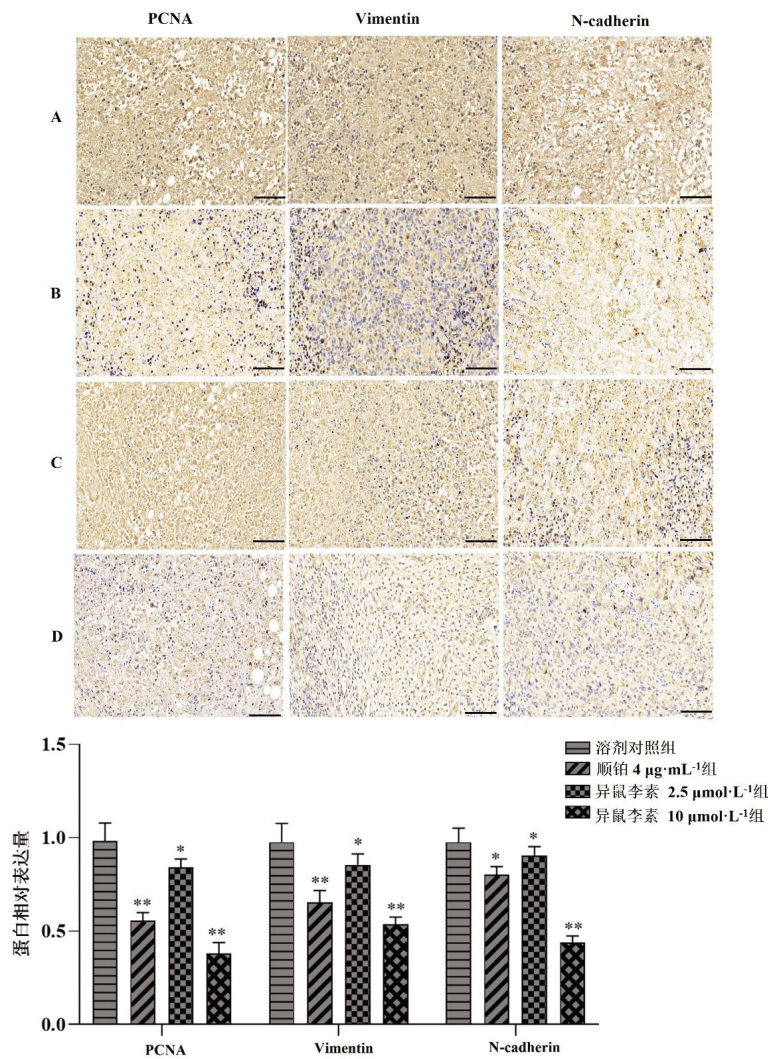


图 5 异鼠李素对裸鼠移植瘤组织中增殖及迁移相关蛋白表达的影响(比例尺=20 μm , $\times 400$; $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.5 Effects of isorhamnetin on the expression of proliferation- and migration-related proteins in xenograft tumor tissues (scale bar=20 μm , $\times 400$; $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

注:A.溶剂对照组;B.顺铂 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;C.异鼠李素 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;D.异鼠李素 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组。与溶剂对照组比较, $*P<0.05$, $**P<0.01$ 。

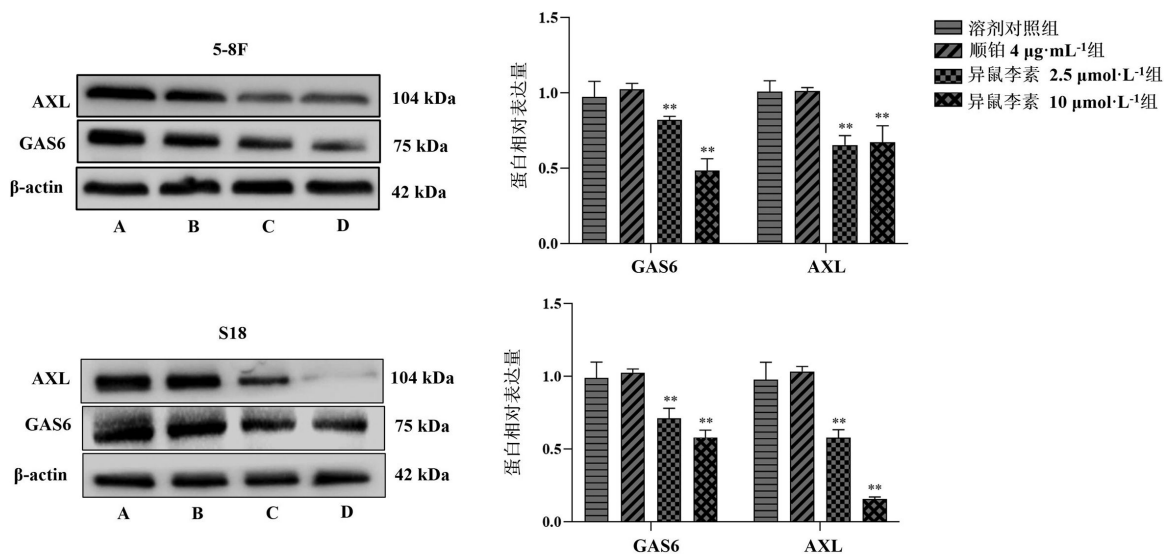


图 6 异鼠李素对鼻咽癌细胞 GAS6 和 AXL 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.6 Effects of isorhamnetin on the protein expression of GAS6 and AXL in nasopharyngeal carcinoma cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

注:A.溶剂对照组;B.顺铂 4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组;C.异鼠李素 2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组;D.异鼠李素 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组。与溶剂对照组比较, $**P<0.01$ 。

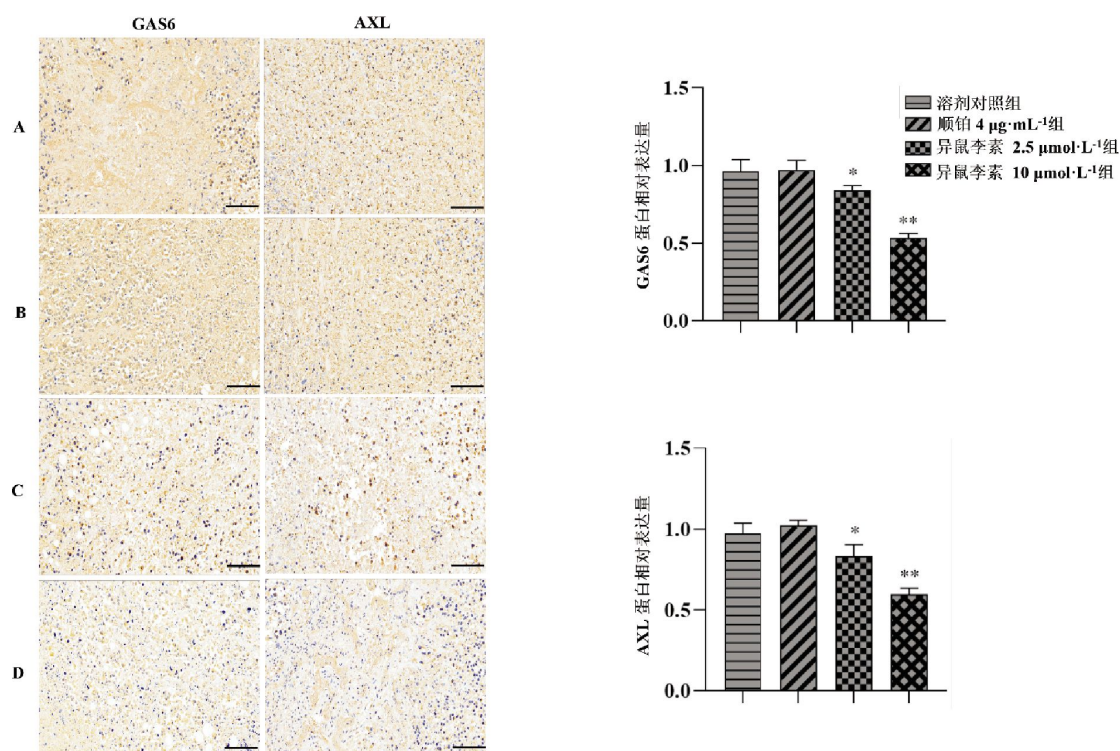


图7 异鼠李素对裸鼠移植瘤组织中 GAS6 和 AXL 蛋白表达的影响(比例尺=20 μm , $\times 400$; $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.7 Effects of isorhamnetin on the expression of GAS6 and AXL proteins in xenograft tumor tissues (Bar=20 μm , $\times 400$; $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

注:A.溶剂对照组;B.顺铂 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;C.异鼠李素 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;D.异鼠李素 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组。与溶剂对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

可显著降低鼻咽癌细胞活力并抑制其迁移能力,同时有效延缓移植瘤生长。上述结果表明,异鼠李素在鼻咽癌中具有抑制增殖及迁移相关表型的抗肿瘤作用。

AXL 作为受体酪氨酸激酶家族成员,已被广泛报道与肿瘤细胞增殖、抑制凋亡、迁移能力增强及治疗耐受形成相关^[22]。已有研究亦提示,AXL 可作为鼻咽癌的预后相关分子,其高表达与肿瘤转移风险升高密切相关^[23-24]。因此,本研究推测 AXL 可能是异鼠李素发挥抗肿瘤效应的重要作用节点。

GAS6 是 AXL 的高亲和力配体, GAS6/AXL 轴作为上游信号枢纽,可介导多条促癌信号通路的激活,从而在肿瘤细胞增殖、迁移及耐药等过程中发挥关键作用^[25-31]。在神经胶质瘤及卵巢癌等肿瘤模型中,阻断 GAS6/AXL 通路可显著抑制肿瘤生长并改善生存结局^[32-33]。本研究结果显示,异鼠李素处理后鼻咽癌细胞及移植瘤组织中 GAS6 与 AXL 蛋白表达明显下调,而在本研究条件下顺铂组未观察到类似变化。这一差异可能源于两者作用机制的不同。作

为传统的化疗药物,顺铂的抗肿瘤作用主要通过诱导 DNA 交联、引发 DNA 损伤应答,以及激活 PI3K/AKT、MAPK 和细胞凋亡通路来实现^[34-35], GAS6/AXL 信号轴并非其主要靶点。相比之下,异鼠李素显著抑制 GAS6/AXL 信号轴的表达,提示其可能通过一种不同于顺铂的分子机制来发挥抗肿瘤效应。因此,异鼠李素的作用机制可能具有特异性,并为未来在鼻咽癌治疗中的应用提供新的研究方向。

肿瘤转移的发生通常需要肿瘤细胞获得更强的运动能力,而上皮-间质转化是肿瘤细胞迁移能力增强的重要生物学过程,其主要特征包括细胞间黏附降低及迁移能力增强,从而促进肿瘤细胞转移潜能形成^[36]。在鼻咽癌中,EMT 与远处转移及治疗耐受密切相关,并受 Akt/ERK、TGF- β /Smad 等信号通路调控^[17,37]。EMT 发生过程中常表现为上皮标志物 E-cadherin 表达下调以及间质标志物 N-cadherin、Vimentin 表达上调^[38]。本研究发现,异鼠李素处理可显著下调鼻咽癌细胞及移植瘤组织中 N-cadherin 与 Vimentin 的表达水平;同时,增殖标志物 PCNA 亦明

显下降。上述结果提示,异鼠李素可能通过抑制细胞增殖并逆转 EMT 相关分子表型改变,从而降低鼻咽癌细胞的迁移能力。既往研究表明,GAS6/AXL 信号轴可参与调控细胞周期相关蛋白表达,并通过影响N-cadherin、Vimentin 等 EMT 关键分子推动肿瘤细胞迁移相关表型形成^[39]。

综上所述,本研究发现异鼠李素能够同步下调 GAS6/AXL 蛋白表达,并伴随 PCNA 下降及 EMT 标志物向上皮表型回归的现象,由此推测异鼠李素抑制鼻咽癌细胞增殖与迁移的作用可能与 GAS6/AXL 信号通路相关。本研究为进一步阐明异鼠李素抗鼻咽癌作用机制及其潜在应用价值提供了实验依据。

尽管本研究在体内外层面提供了较充分的现象学证据,但尚未引入 GAS6/AXL 特异性抑制剂或基因干预手段进行机制层面的反向验证。因此,异鼠李素是否直接作用于 GAS6/AXL 轴以及该通路在其抗肿瘤效应中的关键性仍需进一步确认。未来可通过 AXL 或 GAS6 的敲减/过表达、AXL 抑制剂与异鼠李素联合处理、以及通路回复实验等策略,进一步明确异鼠李素作用靶点及其上下游信号网络,从而为异鼠李素作为鼻咽癌靶向治疗候选药物的开发提供更坚实的理论依据。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71(3): 209–249.
- [2] SIAK P Y, HENG W S, TEOH S S H, et al. Precision medicine in nasopharyngeal carcinoma: Comprehensive review of past, present, and future prospect[J]. Journal of Translational Medicine, 2023, 21(1): 786.
- [3] LV D, LIU Y L, TANG R Y, et al. Analysis of clinical trials using anti-tumor traditional Chinese medicine monomers[J]. Drug Design, Development and Therapy, 2024, 18: 1997–2020.
- [4] WU Y, JIA Q Y, TANG Q, et al. Berberine-mediated ferroptosis through system xc⁻/GSH/GPX4 axis inhibits metastasis of nasopharyngeal carcinoma[J]. Journal of Cancer, 2024, 15(3): 685–698.
- [5] 刘 洁, 史红健, 范婧莹, 等. 基于 TGF- β 1 信号通路研究小檗碱联合芒柄花黄素抑制鼻咽癌细胞迁移的作用机制[J]. 中草药, 2022, 53(10): 3053–3060.
- [6] 郭利培, 刘 洁, 张文青, 等. 吴茱萸碱调控 PI3K/AKT 信号通路抑制鼻咽癌细胞增殖和诱导凋亡[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(4): 612–618.
- [7] RANA J N, GUL K, MUMTAZ S. Isorhamnetin: Reviewing recent developments in anticancer mechanisms and nanoformulation-driven delivery[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(15): 7381.
- [8] ZHAI T Y, ZHANG X Y, HEI Z Y, et al. Isorhamnetin inhibits human gallbladder cancer cell proliferation and metastasis via PI3K/AKT signaling pathway inactivation[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 628621.
- [9] CAI F Z, ZHANG Y M, LI J W, et al. Isorhamnetin inhibited the proliferation and metastasis of androgen-independent prostate cancer cells by targeting the mitochondrion-dependent intrinsic apoptotic and PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. Bioscience Reports, 2020, 40(3): BSR20192826.
- [10] SHI X F, YU Q, WANG K B, et al. Active ingredients Isorhamnetin of Croci Srigma inhibit stomach adenocarcinomas progression by MAPK/mTOR signaling pathway[J]. Scientific Reports, 2023, 13: 12607.
- [11] SARKAR S, DAS A K, BHATTACHARYA S, et al. Isorhamnetin exerts anti-tumor activity in DEN + CCL₄-induced HCC mice[J]. Medical Oncology, 2023, 40(7): 188.
- [12] MEI C, ZHANG X, ZHI Y, et al. Isorhamnetin regulates programmed death ligand-1 expression by suppressing the EGFR-STAT3 signaling pathway in canine mammary tumors[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(1): 670.
- [13] ZHANG P, SUN Y S, SHI L, et al. Effect of isorhamnetin on carbonic anhydrase IX expression and tumorigenesis of bladder cancer by activating PPAR γ /PTEN/AKT pathway[J]. Tissue and Cell, 2023, 82: 102048.
- [14] CHEN Y P, LUO W C, GUAN H X, et al. Isorhamnetin attenuates renal interstitial fibrosis by targeting TWEAK/Fn14-mediated epithelial-mesenchymal transition[J]. Frontiers in Immunology, 2025, 16: 1649327.
- [15] SINGH S, BRABLETZ S, ARNOLD P, et al. Epithelial-mesenchymal transition in the lacrimal gland morphogenesis, damage and repair[J]. The Ocular Surface, 2023, 29: 401–405.
- [16] 李秋菊, 李汝婷, 杜玉珊, 等. 异鼠李素通过抑制凝集素蛋白调控鼻咽癌细胞的机制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2026, 38(2): 326–338.
- [17] 李子煌. 负载异鼠李素的纳米粒子在鼻咽癌中抗癌功效及分子机制的研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2018.
- [18] YANG B, ZHANG F, YUAN W L, et al. Preparation of isorhamnetin nanoparticles and their targeting efficiency to nasopharynx cancer[J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2021,

- 21(2): 1293–1299.
- [19] 袁悦萌, 陈姝霖, 王晓娟, 等. 山楂酸对鼻咽癌细胞迁移与侵袭的干预作用研究[J]. 中医药导报, 2025, 31(4): 27–33.
- [20] 范东伟, 陈本鑫, 余有声, 等. 异鼠李素靶向 CYP1B1/NF- κ B 信号抑制乳腺癌进展并增强紫杉醇敏感性的机制研究[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2025, 46(5): 842–851.
- [21] ZHAI X Q, PU D, WANG R L, et al. Gas6/AXL pathway: Immunological landscape and therapeutic potential[J]. *Frontiers in Oncology*, 2023, 13: 1121130.
- [22] 何凯桐, 周 阳, 王明珠, 等. 受体酪氨酸激酶 AXL 在肿瘤生物学中的作用研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2024, 32(1): 167–171.
- [23] LI L, FANG H, YU Y H, et al. Liquiritigenin attenuates isoprenaline-induced myocardial fibrosis in mice through the TGF- β 1/Smad2 and AKT/ERK signaling pathways[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2021, 24(4): 686.
- [24] YANG J, CHEN J R, LIANG H, et al. Nasopharyngeal cancer cell-derived exosomal PD-L1 inhibits CD8⁺ T-cell activity and promotes immune escape[J]. *Cancer Science*, 2022, 113(9): 3044–3054.
- [25] CHONG Z X, YONG C Y, ONG A H K, et al. Deciphering the roles of aryl hydrocarbon receptor (AHR) in regulating carcinogenesis[J]. *Toxicology*, 2023, 495: 153596.
- [26] DENT P. Crosstalk between ERK, AKT, and cell survival[J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2014, 15(3): 245–246.
- [27] HUANG H T, LIU H W, YAN R Z, et al. PI3K/Akt and ERK/MAPK signaling promote different aspects of neuron survival and axonal regrowth following rat facial nerve axotomy[J]. *Neurochemical Research*, 2017, 42(12): 3515–3524.
- [28] SEN T, TONG P, DIAO L X, et al. Targeting AXL and mTOR pathway overcomes primary and acquired resistance to WEE1 inhibition in small-cell lung cancer[J]. *Clinical Cancer Research*, 2017, 23(20): 6239–6253.
- [29] TANAKA M, SIEMANN D W. Gas6/axl signaling pathway in the tumor immune microenvironment[J]. *Cancers*, 2020, 12(7): 1850.
- [30] KIM T H, LEE D, OH H J, et al. Targeting GAS6/AXL signaling improves the response to immunotherapy by restoring the anti-immunogenic tumor microenvironment in gastric cancer[J]. *Life Sciences*, 2023, 335: 122230.
- [31] YUAN Y, GUO Y, GUO Z W, et al. Marsdeniadenacissima extract induces endoplasmic reticulum stress-associated immunogenic cell death in non-small cell lung cancer cells through targeting AXL[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 314: 116620.
- [32] FAN J W, YU Y, YAN L Z, et al. GAS6-based CAR-T cells exhibit potent antitumor activity against pancreatic cancer[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2023, 16(1): 77.
- [33] BELL J B, ECKERDT F D, ALLEY K, et al. MNK inhibition disrupts mesenchymal glioma stem cells and prolongs survival in a mouse model of glioblastoma[J]. *Molecular Cancer Research*, 2016, 14(10): 984–993.
- [34] CECATI M, POZZI V, POMPEI V, et al. Cisplatin as a xenobiotic agent: Molecular mechanisms of actions and clinical applications in oncology[J]. *Journal of Xenobiotics*, 2026, 16(1): 9.
- [35] LI G D, CHE X Y, WANG S J, et al. The role of cisplatin in modulating the tumor immune microenvironment and its combination therapy strategies: A new approach to enhance anti-tumor efficacy[J]. *Annals of Medicine*, 2025, 57(1): 2447403.
- [36] YIN H, HUA Y, FENG S W, et al. In situ nanofiber formation blocks AXL and GAS6 binding to suppress ovarian cancer development[J]. *Advanced Materials*, 2024, 36(21): 2308504.
- [37] ALLGAYER H, MAHAPATRA S, MISHRA B, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and cancer metastasis: The status quo of methods and experimental models 2025[J]. *Molecular Cancer*, 2025, 24(1): 167.
- [38] JIN H, LIANG G T, HUANG W X, et al. AGR2 activates the TGF- β /Smad signaling pathway to promote epithelial-mesenchymal transition, invasion, and metastasis in nasopharyngeal carcinoma[J]. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 2025, 282(5): 2411–2418.
- [39] BREITENECKER K, HEIDEN D, DEMMER T, et al. Tumor-extrinsic AXL expression shapes an inflammatory microenvironment independent of tumor cell promoting AXL signaling in hepatocellular carcinoma[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(8): 4202.

(本文编辑 苏 维)