

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.06.005

· 基础研究 ·

## 咖啡因通过 FAK/AKT/ROCK 通路调控人脑胶质瘤 U-373MG 细胞的恶性生物学行为

徐加志<sup>1</sup>, 张芸<sup>1</sup>, 陈大刚<sup>1</sup>, 高风全<sup>1</sup>, 任德帅<sup>1</sup>, 吴卫东<sup>1</sup>, 杜妍<sup>1</sup>, 王娜<sup>2</sup>(1. 齐齐哈尔医学院附属第三医院 神经外科, 黑龙江 齐齐哈尔 161000; 2. 齐齐哈尔医学院 临床心理学教研室, 黑龙江 齐齐哈尔 161000)

**[摘要]** **目的:** 探讨咖啡因通过调节 FAK/AKT/ROCK 信号通路来影响人脑胶质瘤 U-373MG 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。**方法:** 常规培养 U-373MG 细胞, 将其分为对照组、咖啡因低剂量(1 mmol/L)组、咖啡因高剂量(2 mmol/L)组、PF573228 组(FAK 抑制剂, 1  $\mu$ mol/L)、咖啡因高剂量+SC79 组(AKT 激活剂, 8 mg/L)。用 CCK-8 法、Transwell 小室实验、流式细胞术和 WB 法分别检测各组 U-373MG 细胞的增殖、迁移、侵袭及凋亡, 以及 U-373MG 细胞中 p-FAK、p-AKT、p-ROCK、Ki67、MMP-9 蛋白表达水平。建立 U-373MG 细胞裸鼠移植瘤模型, 观察咖啡因对移植瘤生长的影响, WB 法检测移植瘤组织中相关蛋白的表达。**结果:** 咖啡因、PF573228 可显著抑制 U-373MG 细胞的增殖、迁移、侵袭能力, 促进 U-373MG 细胞凋亡, 抑制 p-FAK、p-AKT、p-ROCK、Ki67、MMP-9 蛋白的表达(均  $P < 0.05$ ), SC79 则可部分逆转咖啡因对 U-373MG 细胞的作用(均  $P < 0.05$ )。咖啡因可显著抑制移植瘤的生长及移植瘤组织中上述相关蛋白的表达(均  $P < 0.05$ )。**结论:** 咖啡因可通过抑制 FAK/AKT/ROCK 信号通路抑制 U-373MG 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 并促进其凋亡。

**[关键词]** 咖啡因; 人脑胶质瘤; U-373MG 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭; 凋亡; FAK/AKT/ROCK 通路

**[中图分类号]** R739.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)06-0573-06

## Caffeine modulates the malignant biological behaviors of human brain glioma U-373MG cells by regulating the FAK/AKT/ROCK pathway

XU Jiazhi<sup>1</sup>, ZHANG Yun<sup>1</sup>, CHEN Dagang<sup>1</sup>, GAO Fengquan<sup>1</sup>, REN Deshuai<sup>1</sup>, WU Weidong<sup>1</sup>, DU Yan<sup>1</sup>, WANG Na<sup>2</sup>(1. Department of Neurosurgery, the Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical University, Qiqihar 161000 Heilongjiang, China; 2. Clinical Psychology Teaching and Research Office, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161000, Heilongjiang, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of caffeine on the proliferation, migration and invasion abilities of human brain glioma U-373MG cells by regulating the FAK/AKT/ROCK signaling pathway. **Methods:** U-373MG cells were routinely cultured and divided into the control group, the low dose caffeine (1 mmol/L) group, the high dose caffeine (2 mmol/L) group, the PF573228 group (FAK inhibitor, 1  $\mu$ mol/L), and the high dose caffeine+SC79 group (AKT activator, 8 mg/L). The proliferation ability, migration ability, invasion ability and apoptosis rate of U-373MG cells in each group as well as the expression levels of p-FAK, p-AKT, p-ROCK, Ki67 and MMP-9 proteins in U-373MG cells were detected by CCK-8, Transwell assay, flow cytometry and WB assay, respectively. A U-373MG cell nude mouse model was established to observe the effect of caffeine on the growth of transplanted tumor. The expressions of related proteins in transplanted tumor tissues were detected by WB method. **Results:** Caffeine and PF573228 could significantly inhibit the proliferation, migration and invasion abilities of U-373MG cells, promote apoptosis of U-373MG cells, and inhibit the expressions of p-FAK, p-Akt, p-Rock, Ki67 and MMP-9 proteins (all  $P < 0.05$ ). SC79 could partially reverse the effect of caffeine on U-373MG cells. Caffeine could significantly inhibit the growth of transplanted tumors and the expressions of above related proteins in transplanted tumor tissues (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Caffeine can inhibit the proliferation, migration and invasion abilities of U-373MG cells and promote their apoptosis by inhibiting the FAK/AKT/ROCK signaling pathway.

**[Key words]** caffeine; human brain glioma; U-373MG cells; proliferation; migration; invasion; apoptosis; FAK/AKT/ROCK signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(6): 573-578. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.06.005]

**[基金项目]** 齐齐哈尔医学科学院临床科研基金项目(No. QMSI2020L-14)

**[作者简介]** 徐加志(1977—),男,硕士,主治医师,主要从事神经肿瘤的相关研究。E-mail: y64eb95@163.com

**[通信作者]** 王娜, E-mail: wang\_na1028@qmu.edu.cn

人脑胶质瘤是一种颅腔内的恶性肿瘤,具有较高的病死率<sup>[1]</sup>。脑胶质瘤会引起颅内压增高损害神经系统导致神经功能丧失,出现语言、活动等障碍<sup>[2]</sup>。目前,胶质瘤的治疗手段尚不成熟,易复发,预后差,且化疗药物不良反应较大<sup>[3]</sup>,因此,亟需开发毒性小的药物用于人脑胶质瘤的治疗。咖啡因是一种黄嘌呤生物碱类物质,其可调控肿瘤细胞相关蛋白进而抑制肿瘤细胞的恶性生物学行为<sup>[4]</sup>。通过调节 caspase-9/-3 通路可诱导胃癌 MGC-803 和 SGC-7901 细胞凋亡<sup>[5]</sup>。咖啡因可抑制人乳腺癌细胞生长<sup>[6]</sup>。因此推测,咖啡因对肿瘤细胞有一定的抑制作用。FAK/AKT/ROCK 通路是一条迁移相关通路<sup>[7]</sup>。抑制 FAK/AKT/ROCK 通路可抑制非小细胞肺癌 A549 细胞的迁移和侵袭<sup>[7]</sup>,激活 FAK/AKT/MMP-2 可促进胃癌细胞增殖、迁移和侵袭<sup>[8]</sup>。据此推测,FAK/AKT/ROCK 通路在癌细胞迁移过程中发挥重要作用。而咖啡因是否可以影响 FAK/AKT/ROCK 通路尚无报道,因此本研究将就咖啡因是否调节 FAK/AKT/ROCK 信号通路进而影响人脑胶质瘤 U-373MG 细胞的增殖、迁移能力进行探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞、实验动物与主要试剂

人脑神经胶质瘤 U-373MG 细胞购自无锡欣润生物科技有限公司。5~6 周龄、体质量 18~22 g 的 BALB/c 裸鼠购自北京华阜康生物科技股份有限公司[生产许可证号:SCXK(京)2019-0008]。

咖啡因(纯度 $\geq 99\%$ ,溶于 DMSO 溶液)购自 Sigma 公司,Akt 激活剂 SC79(纯度 $\geq 98\%$ ,溶于 DMSO 溶液)购自 MCE 公司,胰蛋白酶购自天津肽链生物科技有限公司,胎牛血清购自上海白益生物科技有限公司,RPMI 1640 培养基购自河南鲲锦生物科技有限公司,CCK-8 试剂盒购自上海研启生物科技有限公司,Transwell 小室购自上海未熹生物科技有限公司,细胞凋亡检测试剂盒购自湖北艾普蒂生物工程有限公司,兔抗 FAK、p-FAK、AKT、p-AKT、ROCK、p-ROCK、Ki67、MMP-9、GAPDH 一抗及辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗均购自英国 Abcam 公司。

### 1.2 细胞培养与分组处理

常规培养 U-373MG 细胞,将其接种于 48 孔板中,添加相应药物处理。将不同处理的 U-373MG 细胞分为对照组、咖啡因低剂量组(1 mmol/L)、咖啡因高剂量组(2 mmol/L)<sup>[9]</sup>、PF573228 组(FAK 抑制剂 1  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>[10]</sup>、咖啡因高剂量+SC79 组(AKT 激活剂 8 mg/L)<sup>[11]</sup>。培养 24 h 后进行后续实验。

### 1.3 CCK-8 法检测各组 U-373MG 细胞的增殖能力

将 U-373MG 细胞( $5 \times 10^4$  个/孔)接种到 96 孔板中,在培养 48、72 h,弃去上清液,按照 CCK-8 试剂盒说明书进行操作,最后用酶标仪测定各孔在 450 nm 处的光密度(D)值。以 D 值代表细胞的增殖活力。

### 1.4 Transwell 小室实验检测各组 U-373MG 细胞的迁移和侵袭能力

用胰蛋白酶消化处理的各组细胞,无血清培养基稀释、重悬细胞使其密度为  $5 \times 10^5$  个/mL。取 200  $\mu\text{L}$  细胞悬液加入 Transwell 小室上室,下室加入 600  $\mu\text{L}$  10% 胎牛血清培养液,培养 24 h, PBS 缓冲液清洗,多聚甲醛固定 20 min 后再用 0.1% 结晶紫染色,显微镜观察、拍照并计数迁移细胞数。侵袭实验用 Matrigel 基质胶包被上室,其余步骤同细胞迁移实验。

### 1.5 流式细胞术检测各组 U-373MG 细胞的凋亡

离心收集各组培养的 U-373MG 细胞,重悬于 500  $\mu\text{L}$  1 $\times$ 结合缓冲液中,根据凋亡试剂盒说明书步骤,加入 Annexin V-FITC 溶液与 PI 试剂,室温避光处理 15 min,通过流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

### 1.6 移植瘤实验检测咖啡因对移植瘤生长的影响

将含  $10^6$  个的 U-373MG 细胞悬液注射于 BALB/c 裸鼠右腋下建立肿瘤模型,当肿瘤长到约 100  $\text{mm}^3$  时<sup>[12]</sup>,按随机数字表法将荷瘤裸鼠分为对照组、咖啡因组(10 只/组),咖啡因组咖啡因灌胃(1 mol/L, 0.5 mL/d)<sup>[13]</sup>,对照组等体积生理盐水灌胃,持续 20 d。给药结束后,处死裸鼠,剥离移植瘤,检测肿瘤体积和质量。依据公式“抑瘤率=(对照组肿瘤质量-实验组肿瘤质量)/对照组肿瘤质量 $\times 100\%$ ”。

### 1.7 WB 法检测各组 U-373MG 细胞和移植瘤组织中相关蛋白的表达

用裂解液提取各组 U-373MG 细胞和移植瘤组织的总蛋白质,检测其浓度及纯度,SDS-PAGE 分离后转膜,5% 脱脂奶粉封闭液中室温处理 2 h,加入 FAK、p-FAK、AKT、p-AKT、ROCK、p-ROCK、Ki67、MMP-9、GAPDH 一抗(稀释比例均为 1:1 000)4  $^{\circ}\text{C}$  摇床处理过夜,洗膜后再分别加入二抗室温处理 1 h,加入 ECL 发光液显影,Image-Pro Plus 软件定量分析蛋白条带灰度值。

### 1.8 统计学处理

分析数据用 Graphpad Prism 8.0.1 软件。符合正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较用单因素方差分析,进一步两组间的比较采用 SNK-*q* 检验,两组间单独比较用 *t* 检验。以  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 咖啡因、PF573228可显著抑制U-373MG细胞的增殖活力而SC79则可逆转咖啡因对其的作用

CCK-8法检测结果(图1)显示,与对照组相比,咖啡因低、高剂量组和PF573228组U-373MG细胞的增殖活力均显著降低(均 $P<0.05$ )。与咖啡因高剂量组相比,PF573228组U-373MG细胞增殖活力无显著变化( $P>0.05$ ),咖啡因高剂量+SC79组U-373MG细胞增殖活力显著增加( $P<0.05$ )。实验结果说明,咖啡因、PF573228均可显著抑制U-373MG细胞的增殖活力,AKT抑制剂SC79则可显著逆转咖啡因对U-373MG细胞增殖活力的抑制作用。

### 2.2 咖啡因、PF573228可显著抑制U-373MG细胞的迁移和侵袭能力而SC79则可逆转咖啡因对其的作用

Transwell小室实验检测结果(图2)显示,与对照组相比,咖啡因低、高剂量组和PF573228组U-373MG细胞的迁移和侵袭能力均显著降低(均 $P<0.05$ )。与咖啡因高剂量组相比,PF573228组U-373MG细胞的迁移和

侵袭能力无明显变化( $P>0.05$ ),咖啡因高剂量+SC79组U-373MG细胞的迁移和侵袭能力均显著升高(均 $P<0.05$ )。实验结果说明,咖啡因、PF573228均可显著抑制U-373MG细胞的迁移和侵袭活力,AKT抑制剂SC79则可显著逆转咖啡因对U-373MG细胞迁移和侵袭活力的抑制作用。

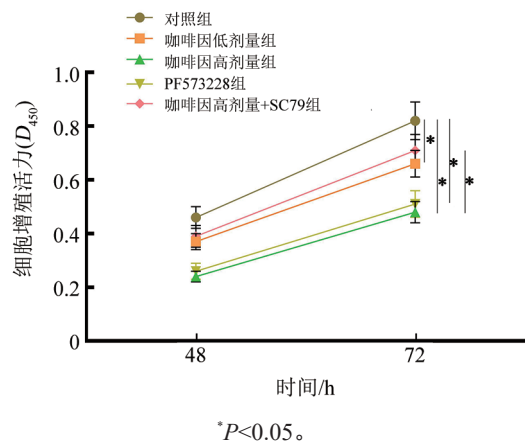


图1 咖啡因对U-373MG细胞增殖的影响

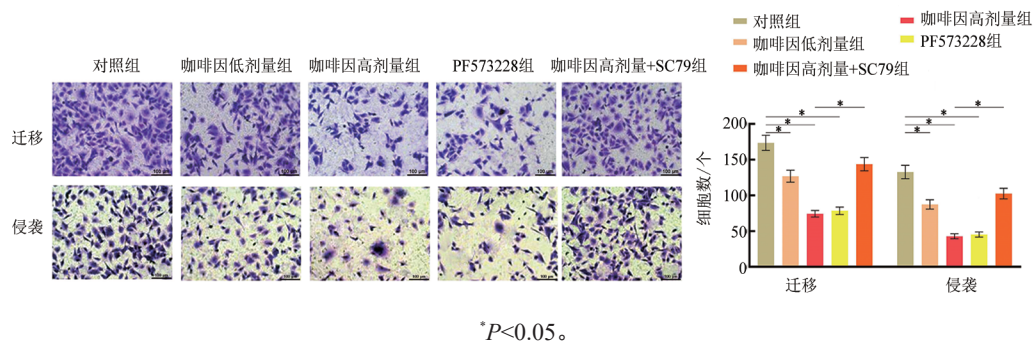


图2 咖啡因对细胞迁移和侵袭的影响(结晶紫染色,  $\times 200$ 倍)

### 2.3 咖啡因、PF573228均可明显促进U-373MG细胞的凋亡而SC79则可逆转咖啡因对其的作用

流式细胞术检测结果(图3)显示,与对照组相比,咖啡因低、高剂量组和PF573228组U-373MG细胞的凋亡率[(21.46 $\pm$ 2.36)%、(37.86 $\pm$ 3.53)%、(38.17 $\pm$ 3.47)% vs (5.27 $\pm$ 0.64)%]均显著升高(均 $P<0.05$ )。

与咖啡因高剂量组相比,PF573228组U-373MG细胞的凋亡率[(38.17 $\pm$ 3.47)% vs (37.86 $\pm$ 3.53)%]无显著变化( $P>0.05$ ),咖啡因高剂量+SC79组U-373MG细胞的凋亡率[(17.54 $\pm$ 1.63)% vs (37.86 $\pm$ 3.53)%]显著降低( $P<0.05$ )。结果表明,咖啡因可促进U-373MG细胞的凋亡。

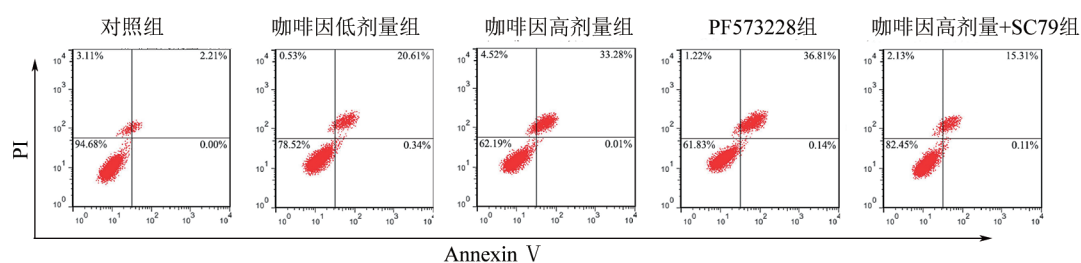


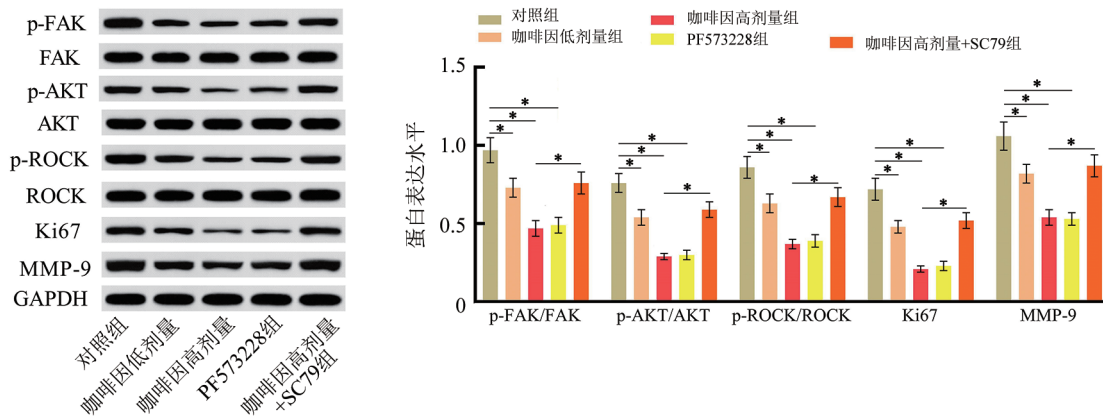
图3 咖啡因对U-373MG细胞凋亡的影响



### 2.4 咖啡因可显著抑制U-373MG细胞中FAK/AKT/ROCK通路相关蛋白的表达

WB法检测结果(图4)显示,与对照组相比,咖啡因低、高剂量组和PF573228组U-373MG细胞中p-FAK、p-AKT、p-ROCK、Ki67、MMP-9蛋白表达均显著降低(均 $P<0.05$ )。与咖啡因高剂量组相比,

PF573228组U-373MG细胞中上述蛋白的表达均无明显变化(均 $P>0.05$ ),咖啡因高剂量+SC79组U-373MG细胞中上述蛋白的表达均显著升高(均 $P<0.05$ )。实验结果说明咖啡因可抑制p-FAK、p-AKT、p-ROCK、Ki67、MMP-9蛋白表达。



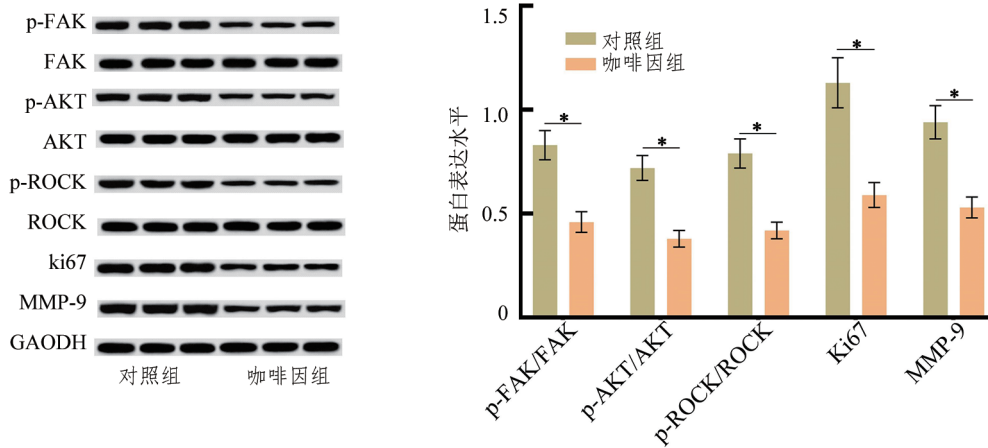
\* $P<0.05$ 。

图4 咖啡因对U-373MG细胞中FAK/AKT/ROCK通路相关蛋白表达的影响

### 2.5 咖啡因可显著抑制移植瘤的生长及移植瘤组织中FAK/AKT/ROCK通路相关蛋白的表达

移植瘤实验检测结果(图5)显示,与对照组相比,咖啡因组移植瘤质量和体积[(0.34±0.03)g vs (0.98±0.07)g、(0.59±0.05)mm<sup>3</sup> vs (1.48±0.16)mm<sup>3</sup>]均显著降低(均 $P<0.05$ ),抑瘤率为(65.31±3.47)%。

WB法检测结果(图5)显示,与对照组相比,咖啡因组移植瘤组织中p-FAK、p-AKT、p-ROCK、Ki67、MMP-9蛋白表达均显著降低(均 $P<0.05$ )。实验结果表明,咖啡因可明显抑制移植瘤的生长和肿瘤组织中p-FAK、p-AKT、p-ROCK、Ki67、MMP-9蛋白的表达。



\* $P<0.05$ 。

图5 咖啡因对裸鼠肿瘤组织中FAK/AKT/ROCK通路相关蛋白表达的影响

## 3 讨论

人脑胶质瘤是一种发生于中枢神经系统的恶性肿瘤,居于神经系统肿瘤第一位<sup>[14]</sup>。人脑胶质瘤发生时体积增大,压迫颅腔内神经系统,造成头痛、抽搐、

昏迷等病症,严重威胁患者生命健康<sup>[15]</sup>。目前,人脑胶质瘤的发病机制尚不完全清楚,没有有效的治疗手段<sup>[16]</sup>,因此,开发新的药物并探究其发病机理对治疗人脑胶质瘤具有重要意义。咖啡因是一种主要从咖啡树、茶树、马黛茶、瓜拿纳等植物中提取的中药

成分,具有一定的抑癌药效<sup>[17]</sup>。MEISAPROW等<sup>[18]</sup>研究表明,咖啡因可以阻滞肺癌NCL-H23细胞周期,并可抑制细胞增殖迁移和侵袭能力。CHEN等<sup>[19]</sup>研究表明,咖啡因通过调节自噬和凋亡相关基因表达可抑制大鼠胶质瘤生长。因此,推测咖啡因可抑制肿瘤细胞生长。本研究探讨了咖啡因对人脑胶质瘤U-373MG细胞的作用及其机制,咖啡因可抑制人脑胶质瘤U-373MG细胞增殖、迁移和侵袭,并促进细胞凋亡,移植瘤实验结果也显示,咖啡因可减小裸鼠肿瘤质量和体积,表明咖啡因可抑制人脑胶质瘤的发生发展。

恶性肿瘤细胞具有较高的增殖和迁移能力,Ki67是一种细胞周期相关的核蛋白,在细胞分裂过程中高表达,可促进细胞增殖<sup>[20]</sup>。MMP-9蛋白在正常组织中低表达,在肿瘤组织中的高表达,可以降解IV型胶原蛋白和弹性蛋白的酶,还可通过降解和破坏基底膜促进肿瘤细胞向基底膜位置浸润和侵袭,具有促进肿瘤细胞迁移的作用<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,对照组U-373MG细胞中Ki67、MMP-9蛋白表达量较高,咖啡因干预后可显著降低Ki67、MMP-9蛋白表达,抑制U-373MG细胞迁移和侵袭。裸鼠移植瘤实验结果也显示,咖啡因可降低裸鼠肿瘤组织中Ki67、MMP-9蛋白表达。

FAK是一种非受体酪氨酸激酶具有衔接功能,可以调节细胞迁移和黏附信号传导,FAK被激活磷酸化后可激活PI3K,而PI3K可作用于AKT,激活的AKT具有高度致癌性可促进肿瘤细胞迁移<sup>[8]</sup>。ROCK是一种Rho相关蛋白激酶,可以调节PI3K/AKT信号途径促进癌细胞增殖和迁移<sup>[7]</sup>。AYESHA等<sup>[21]</sup>研究表明,抑制FAK/AKT通路磷酸化可抑制肝癌细胞生长和转移。KE等<sup>[22]</sup>研究结果表明,抑制FAK/PI3K/AKT信号通路可抑制前列腺癌细胞增殖、迁移和侵袭,并促进细胞凋亡。本研究结果显示,p-FAK/FAK、p-AKT/AKT、p-ROCK/ROCK在U-373MG细胞中高表达,咖啡因干预后可显著降低细胞中p-FAK/FAK、p-AKT/AKT、p-ROCK/ROCK蛋白表达,抑制FAK/AKT/ROCK信号通路。为验证该结论,本实验用FAK抑制剂PF573228进行干预,结果显示,PF573228组中U-373MG细胞各项检测指标与咖啡因高剂量组处于同一水平。进一步验证该结论,本实验在添加咖啡因的基础上添加AKT激活剂SC79进行干预,结果显示,SC79可部分逆转咖啡因对U-373MG细胞的抑制作用。裸鼠移植瘤实验结果也表明,咖啡因可抑制p-FAK/FAK、p-AKT/AKT、p-ROCK/ROCK蛋白表达,抑制FAK/AKT/ROCK信号通。综合以上结果表明,咖啡因通过抑制FAK/

AKT/ROCK信号通路可抑制U-373MG细胞增殖、迁移和侵袭,并促进其凋亡。由于中药成分在细胞和动物体内作用靶点缺乏特异性,可能还存在其他靶点,下一步实验将探索其他作用通路以发掘更多的人脑胶质瘤治疗靶点。

## [参 考 文 献]

- [1] BERG T J, MARQUES C, PANTAZOPOULOU V, *et al.* The irradiated brain microenvironment supports glioma stemness and survival *via* astrocyte-derived transglutaminase 2[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(8): 2101-2115. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-1785.
- [2] OUYANG T H, MENG W, LI M H, *et al.* Recent advances of the hippo/YAP signaling pathway in brain development and glioma[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2020, 40(4): 495-510. DOI: 10.1007/s10571-019-00762-9.
- [3] VAN KEMPEN E J, POST M, MANNIL M, *et al.* Performance of machine learning algorithms for glioma segmentation of brain MRI: a systematic literature review and meta-analysis[J]. *Eur Radiol*, 2021, 31(12): 9638-9653. DOI: 10.1007/s00330-021-08035-0.
- [4] STOUTH D W, LEBEAU P F, AUSTIN R C. Repurposing two old friends to fight cancer: caffeine and statins[J]. *Cancer Res*, 2023, 83(13): 2091-2092. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-23-1066.
- [5] 刘寒旸, 宋军, 周艳, 等. 咖啡因通过 Caspase 通路促进胃癌细胞凋亡的研究[J]. *实用临床医药杂志*, 2017, 21(13): 40-44. DOI: 10.7619/jcmp.201713011.
- [6] ROSENDAHL A H, PERKS C M, ZENG L, *et al.* Caffeine and caffeic acid inhibit growth and modify estrogen receptor and insulin-like growth factor I receptor levels in human breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(8): 1877-1887. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1748.
- [7] KANG C G, LEE H J, KIM S H, *et al.* Zerumbone suppresses osteopontin-induced cell invasion through inhibiting the FAK/AKT/ROCK pathway in human non-small cell lung cancer A549 cells[J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(1): 156-160. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00796.
- [8] WANG X F, CHANG X Y, HE C Y, *et al.* ATP5B promotes the metastasis and growth of gastric cancer by activating the FAK/AKT/MMP2 pathway[J/OL]. *FASEB J*, 2021, 35(4): e20649[2024-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33715234/>. DOI: 10.1096/fj.202000608R.
- [9] 刘寒旸. 咖啡因在胃癌细胞中抑制作用及机制研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2017.
- [10] 华宏军, 陈萍, 叶晓华, 等. FAK抑制剂PF573228负调控CD15s抑制肝癌细胞侵袭的作用机制研究[J]. *浙江医学*, 2021, 43(6): 600-605. DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2021.43.6.2019-3153.
- [11] ZHAO Y, CAI J, SHI K H, *et al.* Germacrone induces lung cancer cell apoptosis and cell cycle arrest *via* the Akt/MDM2/p53 signaling pathway[J/OL]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(6): 452[2024-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33880579/>. DOI: 10.3892/mmr.2021.12091.
- [12] 祁大勇, 刘军, 赵志煌, 等. 青藤碱基于CASC11/AKT3轴对脑胶质瘤原位荷瘤裸鼠肿瘤生长及血管生成的抑制作用[J]. *广西医学*, 2022, 44(12): 1373-1377. DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2022.12.13.
- [13] WANG Z L, GU C X, WANG X R, *et al.* Caffeine enhances the anti-tumor effect of 5-fluorouracil *via* increasing the production of

- reactive oxygen species in hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Med Oncol*, 2019, 36(12): 97[2024-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31664534/>. DOI: 10.1007/s12032-019-1323-8.
- [14] ZHANG Y, MA W P, FAN W H, *et al.* Comprehensive transcriptomic characterization reveals core genes and module associated with immunological changes *via* 1619 samples of brain glioma[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(12): 1140[2024-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34880206/>. DOI: 10.1038/s41419-021-04427-8.
- [15] SIGHINOLFI G, MITOLO M, TESTA C, *et al.* What can resting-state fMRI data analysis explain about the functional brain connectivity in glioma patients? [J]. *Tomography*, 2022, 8(1): 267-280. DOI: 10.3390/tomography8010021.
- [16] SCHWAB M, DE TRIZIO I, GHOBRIAL M, *et al.* Nucleolin promotes angiogenesis and endothelial metabolism along the oncofetal axis in the human brain vasculature[J/OL]. *JCI Insight*, 2023, 8(8): e143071[2024-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36917178/>. DOI: 10.1172/jci.insight.143071.
- [17] CADONÁ F C, DANTAS R F, DE MELLO G H, *et al.* Natural products targeting into cancer hallmarks: an update on caffeine, theobromine, and (+)-catechin[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022, 62(26): 7222-7241. DOI: 10.1080/10408398.2021.1913091.
- [18] MEISAPROW P, AKSORN N, VINAYANUWATTIKUN C, *et al.* Caffeine induces G0/G1 cell cycle arrest and inhibits migration through integrin  $\alpha$ v,  $\beta$ 3, and FAK/akt/c-myc signaling pathway[J/OL]. *Molecules*, 2021, 26(24): 7659[2024-02-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8706725/>. DOI: 10.3390/molecules26247659.
- [19] CHEN J C, HWANG J H. Caffeine inhibits growth of temozolomide-treated glioma *via* increasing autophagy and apoptosis but not *via* modulating hypoxia, angiogenesis, or endoplasmic reticulum stress in rats[J]. *Nutr Cancer*, 2022, 74(3): 1090-1096. DOI: 10.1080/01635581.2021.1931361.
- [20] JAYARAMAN S, PAZHANI J, PRIYAVEERARAGHAVAN V, *et al.* PCNA and Ki67: Prognostic proliferation markers for oral cancer [J/OL]. *Oral Oncol*, 2022, 130: 105943[2024-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35653815/>. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2022.105943.
- [21] AYESHA M, MAJID A, ZHAO D T, *et al.* miR-4521 plays a tumor repressive role in growth and metastasis of hepatocarcinoma cells by suppressing phosphorylation of FAK/AKT pathway *via* targeting FAM129A[J]. *J Adv Res*, 2021, 36: 147-161. DOI: 10.1016/j.jare.2021.05.003.
- [22] KE S, LIU Z L, WANG Q H, *et al.* FAM107A inactivation associated with promoter methylation affects prostate cancer progression through the FAK/PI3K/AKT pathway[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(16): 3915[2024-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36010909/>. DOI: 10.3390/cancers14163915.

[收稿日期] 2024-02-20

[修回日期] 2024-05-09

[本文编辑] 向正华