

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.06.006

## 花旗松素通过 Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT 信号通路抑制膀胱癌 T24 细胞的恶性生物学行为

路通<sup>1</sup>, 元晓科<sup>2</sup>, 付天英<sup>3</sup>, 邵永刚<sup>4</sup>, 路英文<sup>4</sup>(1. 邢台市人民医院 泌尿外科, 河北 邢台 054000; 2. 沙河市人民医院 泌尿外科, 河北 邢台 054100; 3. 河北省眼科医院 麻醉科, 河北 邢台 054000; 4. 沙河市人民医院 病理科, 河北 邢台 054100)

**[摘要]** **目的:** 探究花旗松素(TAX)通过 Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT 信号通路调控人膀胱癌 T24 细胞的恶性生物学行为。**方法:** 常规培养膀胱癌 T24 细胞, 将其分为: Ctrl 组(未处理)、TAX-L 组(5  $\mu$ mol/L TAX 处理)、TAX-M 组(10  $\mu$ mol/L TAX 处理)、TAX-H 组(20  $\mu$ mol/L TAX 处理)、TAX-H + Rac1 激活剂组(20  $\mu$ mol/L TAX + 50 nmol/L ML-097 处理)。CCK-8 法、克隆形成实验、划痕愈合实验、Transwell 小室实验和流式细胞术分别检测不同浓度 TAX 对 T24 细胞增殖、迁移、侵袭能力和凋亡的影响, WB 法检测对 T24 细胞中细胞凋亡、上皮间充质转化、Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT 轴相关蛋白表达的影响; T24 细胞裸鼠移植瘤实验检测 TAX 对移植瘤生长的影响。**结果:** TAX 呈剂量依赖性地抑制 T24 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 并促进其凋亡(均  $P < 0.05$ ), 促进凋亡蛋白 BAX 和 E-cadherin、抑制 Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT 信号通路相关蛋白的表达、Bcl-2 和 N-cadherin 蛋白表达(均  $P < 0.05$ ), 抑制移植瘤的生长( $P < 0.05$ ), ML-097 均可部分逆转上述作用(均  $P < 0.05$ )。**结论:** TAX 通过抑制 Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT 信号通路中抑制膀胱癌 T24 细胞的恶性生物学行为, 促进其凋亡。

**[关键词]** 花旗松素; Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT 信号通路; 膀胱癌; T24 细胞; 恶性生物学行为

**[中图分类号]** R737.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 06-0604-08

## Toxifolin inhibits malignant biological behaviors of bladder cancer T24 cells via Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT signaling pathway

LU Tong<sup>1</sup>, YUAN Xiaoke<sup>2</sup>, FU Tianying<sup>3</sup>, SHAO Yonggang<sup>4</sup>, LU Yingwen<sup>4</sup> (1. Department of Urology, Xingtai People's Hospital, Xingtai 054000, Hebei, China; 2. Department of Urology, Shahe People's Hospital, Xingtai 054100, Hebei, China; 3. Department of Anesthesiology, Hebei Eye Hospital, Xingtai 054000, Hebei, China; 4. Department of Pathology, Shahe People's Hospital, Xingtai 054100, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of toxifolin (TAX) on the malignant biological behaviors of human bladder cancer T24 cells through the Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT signaling pathway. **Methods:** Bladder cancer T24 cells were routinely cultured and divided into: Ctrl group (untreated), TAX-L group (5  $\mu$ mol/L TAX), TAX-M group (10  $\mu$ mol/L TAX), TAX-H group (20  $\mu$ mol/L TAX), and TAX-H+Rac1 activator group (20  $\mu$ mol/L TAX + 50 nmol/L ML-097). CCK-8 method, clone formation assay, scratch healing assay, Transwell chamber assay, and flow cytometry were used to evaluate the effects of different concentrations of TAX on the proliferation, migration, invasion, and apoptosis of T24 cells. WB method was used to examine the expression of apoptosis-related proteins, epithelial-mesenchymal transition (EMT)-related proteins, and Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT axis related proteins in T24 cells; A nude mice xenograft model was used to assess the effect of TAX on tumor growth. **Results:** TAX dose-dependently inhibited the proliferation, migration, and invasion of T24 cells and promoted apoptosis (all  $P < 0.05$ ). TAX also increased the expression of apoptosis proteins BAX and E-cadherin, while decreasing the expression of Bcl-2, N-cadherin, and Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT signaling pathway-related proteins (all  $P < 0.05$ ). Furthermore, TAX inhibited tumor growth in the xenograft model ( $P < 0.05$ ). ML-097 partially reversed these effects (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** TAX inhibits the malignant biological behaviors of bladder cancer T24 cells and promotes their apoptosis by inhibiting Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT signaling pathway.

**[Key words]** toxifolin (TAX); Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT signaling pathway; bladder cancer; T24 cell; malignant biological behavior

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(6): 604-610. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.06.006]

**[基金项目]** 河北省医学科学研究课题计划(No. 20220216)

**[作者简介]** 路通(1992—), 男, 硕士生, 主治医师, 主要从事泌尿系肿瘤治疗的基础与临床研究

**[通信作者]** 路英文(扫码获取作者联系方式)



膀胱癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤,是世界上最常见的癌症之一<sup>[1]</sup>。2020年,全球新诊断膀胱癌病例约573 278例<sup>[1]</sup>,预计至2040年,膀胱癌确诊例数将翻一番<sup>[2]</sup>。近年来,发达国家膀胱癌的年龄标准化病死率在下降,而在全球低收入地区有上升趋势<sup>[3]</sup>。患膀胱癌的风险受到许多致癌物的影响,尼古丁是其中最常见的一种致癌物<sup>[4]</sup>。高龄、常吸烟男性患膀胱癌的概率更高<sup>[5]</sup>。膀胱功能受损通常导致尿液无法储存或排空,引发尿失禁、尿频、尿潴留和膀胱疼痛等。目前,膀胱癌的相关治疗方案有限且实用性不理想。花旗松素(taxifolin, TAX)是主要源自花旗松和落叶松的一种黄酮类化合物,在多种水果和蔬菜中也广泛存在,其摄入对于人类健康具有较大裨益<sup>[6]</sup>。TAX对炎症、恶性肿瘤、微生物感染、心血管和肝脏疾病等病理方面显示出良好的生物活性,是一种强大的抗氧化剂,在预防人类恶性肿瘤方面有良好作用<sup>[7]</sup>。Ras 相关 C3 肉毒杆菌毒素底物 1 (Ras related C3 botulinum toxin substrate 1, Rac1) 是一种 Rho GTPase,可调节多种细胞生理病理过程,是治疗多种实体肿瘤和某些血液系统肿瘤等的主要靶点<sup>[8]</sup>。Rac1 主要参与细胞肌动蛋白骨架重组,参与细胞基本功能的调节,如细胞增殖、细胞存活和细胞运动<sup>[9]</sup>。Rac1 过度活化在人类癌症中很常见,可能是由于 Rac1 过表达、异常的上游分子调控、控制 Rac1 相关蛋白降解或细胞内定位异常所导致<sup>[10]</sup>。研究<sup>[11]</sup>发现,Rac1 的失调和过表达在膀胱相关的细菌感染、糖尿病诱导的膀胱功能障碍和膀胱癌中具有重要作用。前期研究结果证实,经 TAX 处理的膀胱癌细胞中 Rac1 蛋白表达水平降低。本研究旨在探究 TAX 对膀胱癌细胞的恶性生物学行为的影响及其机制,为 TAX 治疗膀胱癌提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物、细胞与主要试剂

人膀胱癌 T24 细胞购自中国科学院细胞库。18 只 4~6 周龄 SPF 级雄性 BALB/c 裸鼠,体质量为(19 $\pm$ 2)g,于河北省邢台市人民医院饲养[许可证号:SYXK(冀)2024-023],于本研究中所有的动物实验程序均经动物伦理委员会批准(批准号:20221013)。

花旗松素(货号:78666,纯度 $\geq$ 85%)、细胞凋亡检测试剂盒(货号:APOAF)购自德国 Sigma-Aldrich 公司,CCK-8 试剂盒(货号:HY-K0301)购自美国 Med Chem Express 公司,兔抗 AKT(货号:ab8805)、p-AKT(货号:ab38449)、Lamin C(货号:ab314500)、NF- $\kappa$ B p65(货号:ab16502)、Rac1(货号:ab155938)抗体均购自美国 Abcam 公司,ML-097(Rac 激活剂)(货号:HY-

118208)、兔抗 Bcl-2(货号:HY-P80566)、BAX(货号:HY-P80028)、E-cadherin(货号:HY-P80113)抗体、鼠抗 N-cadherin(货号:HY-P80238)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗鼠二抗(货号:HY-P8004)均购自美国 Med Chem Express 公司,HRP 标记的羊抗兔二抗(货号:BHR101)购自北京博尔西科技有限公司。

### 1.2 细胞培养、处理与分组

25 mg TAX 粉末溶于 1 mL DMSO 配成 70 mmol/L TAX 母液,分装后于 -20 °C 保存备用。T24 细胞的完全培养基由 89% RPMI 1640 培养基、10% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素配制而成。T24 细胞于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱中培养。将膀胱癌 T24 细胞分为:对照(Ctrl)组、TAX-L 组(5  $\mu$ mol/L TAX)、TAX-M 组(10  $\mu$ mol/L TAX)、TAX-H 组(20  $\mu$ mol/L TAX)、TAX-H + ML-097 组(20  $\mu$ mol/L TAX + 50 nmol/L ML-097);Ctrl 组用含 0.03% DMSO 培养基处理,其余 TAX 和 ML-097 处理组按照含相应浓度的 TAX 和 ML-097 处理。

### 1.3 CCK-8 法检测各组 T24 细胞的存活率

将 T24 细胞以 1  $\times$  10<sup>4</sup> 个/孔接种到 96 孔板中,按 1.2 节方法处理细胞,培养 48 h 后换成含 10% CCK-8 溶液的完全培养基继续培养 3 h,使用酶标仪测定 450 nm 处的光密度(D)值。按公式“[(对照组 D 值 - 实验组 D 值)/(对照组 D 值 - 空白组 D 值)]  $\times$  100%”计算获取各组 T24 细胞的存活率。

### 1.4 集落形成检测各组 T24 细胞的增殖能力

将 T24 细胞以 5  $\times$  10<sup>2</sup> 个/孔接种于 6 孔板中,按 1.2 节方法处理细胞,培养 15 d 后,用 10% 甲醛固定 30 min,0.5% 结晶紫染色,在显微镜观察计数集落形成数并拍照。

### 1.5 流式细胞术检测各组 T24 细胞的凋亡情况

将 T24 细胞接种到 6 孔板中,待细胞汇合度至 70%~80% 时,按 1.2 节方法处理细胞,培养 48 h 后收集细胞,用 PBS 缓冲液洗涤 1 次,将细胞用透膜液重悬后加入 Annexin V-FITC 和 PI 染色液,室温下避光处理 15 min,透膜液洗涤 1 次并重悬后,用筛网过滤,使用流式细胞仪进行检测。用 Kaluza Analysis 软件进行结果分析。

### 1.6 划痕实验检测各组 T24 细胞的迁移能力

将 T24 细胞接种到 6 孔板中,待细胞汇合度约 100% 时,用 10  $\mu$ L 移液器吸头划痕,划线时须保持吸头与细胞培养皿底部平面垂直,每孔至少划 3 条直线,并在划线后洗去脱落细胞。按 1.2 节方法处理细胞,培养 48 h。分别于 0 和 48 h 用显微镜观察并拍照记录,计算划痕面积。按公式“(1 - 48 h 划痕面积/0 h 划痕面积)  $\times$  100%”计数划痕愈合率。

### 1.7 Transwell小室实验检测各组T24细胞的侵袭能力

将T24细胞以 $1 \times 10^5$ 个/孔接种到铺有基质胶的上室中,按1.2节方法处理细胞,培养48 h后,将侵入下室的细胞在室温下用Giemsa溶液染色15 min。使用光学显微镜拍照记录并计数,并使用Image J软件进行定量。按公式“侵袭细胞数/接种细胞数 $\times 100\%$ ”计数各组T24细胞的侵袭率。

### 1.8 WB法检测各组T24细胞中Rac1等蛋白的表达

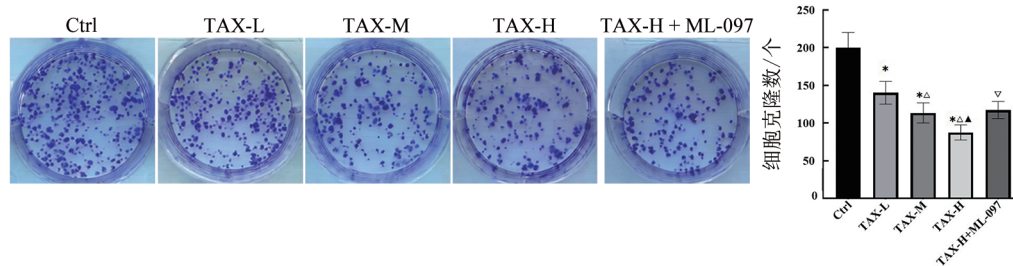
T24细胞接种到6孔板中,按1.2节方法处理细胞,培养48 h后,收集细胞,用RIPA裂解液提取细胞总蛋白或用细胞核蛋白提取试剂盒提取核蛋白。将蛋白样品进行定量、电泳、转膜、封闭后,将膜与抗BAX、Bcl-2、N-cadherin、E-cadherin、Lamin C、 $\beta$ -actin、Rac1、AKT、p-AKT、NF- $\kappa$ B p65、GAPDH和 $\beta$ -actin抗体4 $^{\circ}$ C下反应过夜,与相应HRP标记二抗室温下处理2 h,用ECL试剂显色、成像系统观察、拍照,Image J软件评估目的条带的灰度值。

### 1.9 T24细胞裸鼠移植瘤实验观察TAX对肿瘤生长的影响

将 $5 \times 10^6$ 个T24细胞注射至裸鼠的皮下,待瘤体可明显观察到时,将裸鼠随机分为对照组、TAX组和TAX + ML-097组,每组6只,TAX组使用生理盐水稀释TAX后按照20 mg/kg进行灌胃给药<sup>[12]</sup>,对照组使用等体积的生理盐水灌胃给药,每天给药1次,共给药8周。对裸鼠进行脱颈处理,将肿瘤部分组织进行切除并使用钢尺测量肿瘤体积。肿瘤体积/ $\text{mm}^3 = (\text{长} \times \text{宽}^2)/2$ 。

#### 1.10 统计学处理

用Graphpad Prism 7.0软件分析实验数据。符合正态分布的计量数据 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析和Tukey检验用于多组间的比较,两组间的比较用*t*检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。



与Ctrl组比较,\* $P < 0.05$ ;与TAX-L组比较, $\Delta P < 0.0$ ;与TAX-M组比较, $\Delta P < 0.05$ ;与TAX-H组比较, $\nabla P < 0.05$ 。

图2 集落形成实验评估T24细胞的增殖能力

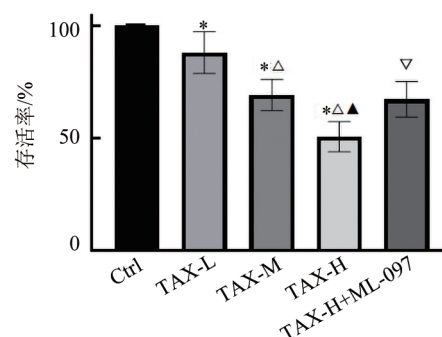
### 2.3 TAX呈浓度依赖性地促进T24细胞凋亡而ML-097可部分抑制其作用

流式细胞术检测结果(图3)显示,与Ctrl组相比,不同浓度的TAX均能显著促进T24细胞凋亡(均

## 2 结果

### 2.1 TAX呈浓度依赖性地抑制T24细胞的存活而ML-097可部分抑制其作用

CCK-8法检测结果(图1)显示,与Ctrl组相比,不同浓度的TAX均能显著抑制T24细胞的存活(均 $P < 0.05$ ),且呈浓度依赖性。与TAX-H组比较,TAX-H + ML-097组细胞存活率升高( $P < 0.05$ )。实验结果说明,TAX可呈浓度依赖性地抑制T24细胞的存活率,Rac抑制剂ML-097可部分抑制其作用。



与Ctrl组比较,\* $P < 0.05$ ;与TAX-L组比较, $\Delta P < 0.0$ ;与TAX-M组比较, $\Delta P < 0.05$ ;与TAX-H组比较, $\nabla P < 0.05$ 。

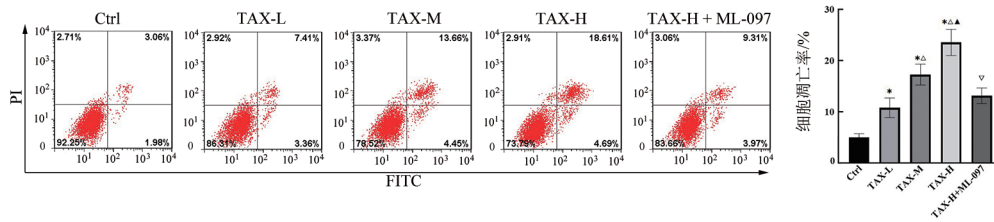
图1 各组T24细胞的存活率

### 2.2 TAX呈浓度依赖性地抑制T24细胞的克隆形成能力而ML-097可部分抑制其作用

克隆形成实验检测结果(图2)显示,与Ctrl组相比,不同浓度的TAX均能显著抑制T24细胞的克隆形成能力(均 $P < 0.05$ ),且呈浓度依赖性。与TAX-H组比较,TAX-H + ML-097组细胞克隆形成能力升高( $P < 0.05$ )。实验结果说明,TAX可呈浓度依赖性地抑制T24细胞的克隆形成能力,ML-097可部分抑制其作用。

$P < 0.05$ ),且呈浓度依赖性。与TAX-H组比较,TAX-H + ML-097组细胞凋亡率明显下降( $P < 0.05$ )。实验结果说明,TAX呈浓度依赖性地促进T24细胞凋亡,ML-097可部分抑制其作用。





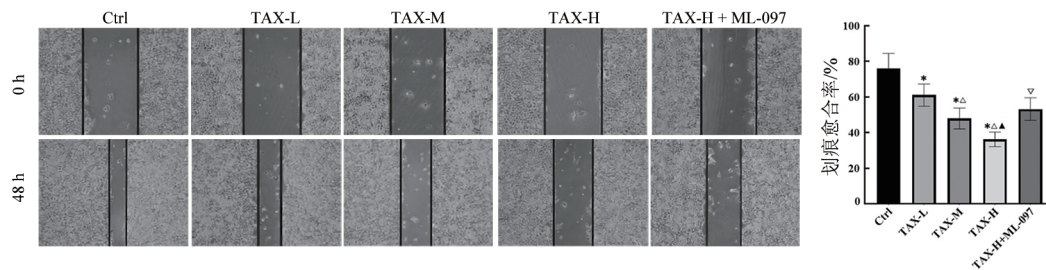
与 Ctrl 组比较, \* $P < 0.05$ ; 与 TAX-L 组比较,  $\Delta P < 0.01$ ; 与 TAX-M 组比较,  $\blacktriangle P < 0.05$ ; 与 TAX-H 组比较,  $\nabla P < 0.05$ 。

图3 流式细胞术检测 T24 细胞凋亡情况

2.4 TAX 呈浓度依赖性地抑制 T24 细胞的迁移能力而 ML-097 可部分抑制其作用

划痕愈合实验检测结果(图4)显示,与 Ctrl 组相比,不同浓度 TAX 处理后 T24 细胞的划痕愈合率均显著下

降(均  $P < 0.05$ ),且呈浓度依赖性。与 TAX-H 组比较, TAX-H + ML-097 组细胞划痕愈合率明显升高 ( $P < 0.05$ )。实验结果说明, TAX 呈浓度依赖性地抑制 T24 细胞的迁移能力, ML-097 可部分抑制其作用。



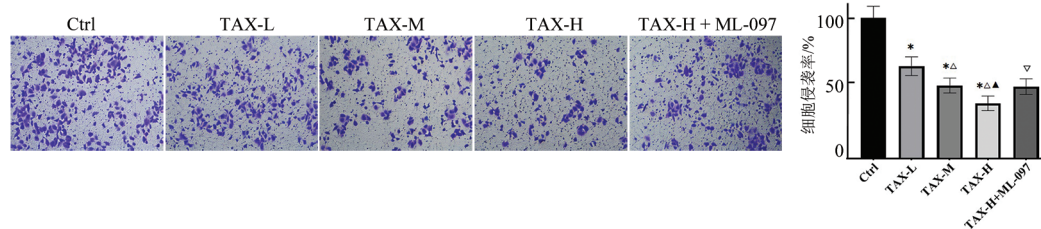
与 Ctrl 组比较, \* $P < 0.05$ ; 与 TAX-L 组比较,  $\Delta P < 0.01$ ; 与 TAX-M 组比较,  $\blacktriangle P < 0.05$ ; 与 TAX-H 组比较,  $\nabla P < 0.05$ 。

图4 划痕愈合实验检测 T24 细胞的迁移能力

2.5 TAX 呈浓度依赖性地抑制 T24 细胞的侵袭能力而 ML-097 可部分抑制其作用

Transwell 小室实验检测结果(图5)显示,与 Ctrl 组相比,不同浓度的 TAX 均能显著抑制 T24 细胞的侵袭

率(均  $P < 0.05$ ),且呈浓度依赖性。与 TAX-H 组比较, TAX-H + ML-097 组细胞侵袭率明显升高 ( $P < 0.05$ )。实验结果说明, TAX 呈浓度依赖性地抑制 T24 细胞的侵袭能力, ML-097 可部分抑制其作用。



与 Ctrl 组比较, \* $P < 0.05$ ; 与 TAX-L 组比较,  $\Delta P < 0.01$ ; 与 TAX-M 组比较,  $\blacktriangle P < 0.05$ ; 与 TAX-H 组比较,  $\nabla P < 0.05$ 。

图5 Transwell 实验检测 T24 细胞的侵袭能力

2.6 TAX 呈剂量依赖性地促进 BAX、E-cadherin 蛋白表达、下调 Bcl-2、N-cadherin 蛋白表达,而 ML-097 可部分抑制这种作用

WB 法检测结果(图6)显示,与 Ctrl 组相比,不同浓度的 TAX 处理的 T24 细胞中 BAX 和 E-cadherin 蛋白表达水平均显著升高(均  $P < 0.05$ ), Bcl-2 和 N-cadherin 表达水平均显著下降(均  $P < 0.05$ )。与 TAX-H 组比较, TAX-H + ML-097 组 BAX 和 E-cadherin 表达水平均显著降低(均  $P <$

0.05), Bcl-2 和 N-cadherin 蛋白表达水平均显著升高(均  $P < 0.05$ )。实验结果说明, TAX 呈剂量依赖性地促进 BAX、E-cadherin 蛋白表达, Bcl-2、N-cadherin 蛋白表达下降, ML-097 可部分抑制这种作用。

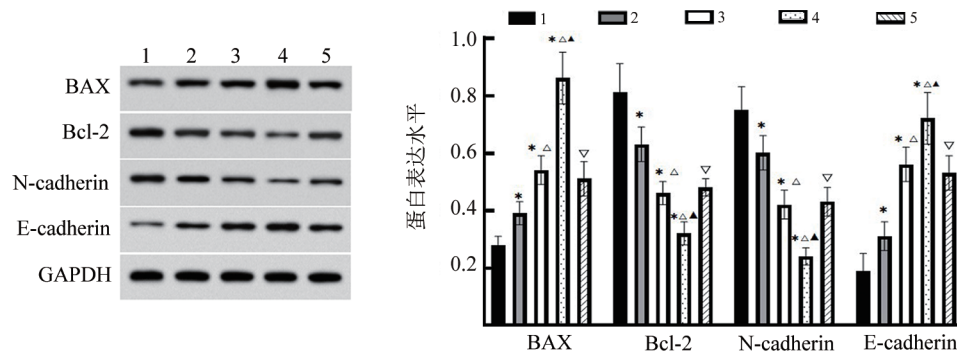
2.7 TAX 呈剂量依赖性地抑制 T24 细胞中 Rac1/NF-κB/AKT 信号通路相关蛋白的表达而 ML-097 可部分抑制这种作用

WB 法检测结果(图7)显示,与 Ctrl 组相比,不同浓度的 TAX 处理的 T24 细胞中 Rac1、核内 NF-κB p65

蛋白/胞质 NF-κB p65 蛋白比值和 p-AKT 蛋白水平均显著降低(均  $P < 0.05$ ), 与 TAX-H 组比较, TAX-H + ML-097 组细胞 Rac1 表达、核内 NF-κB p65 蛋白/胞质 NF-κB p65 蛋白比值和 p-AKT 蛋白水平均显著升高(均  $P < 0.05$ )。结果说明, TAX 呈剂量依赖性地抑制 T24 细胞中 Rac1/NF-κB/AKT 信号通路相关蛋白的表达, Rac1 抑制剂 ML-097 可部分抑制这种作用。

### 2.8 TAX 明显抑制 T24 细胞移植瘤的生长而 Rac1 激动剂 ML-097 可抑制这种作用

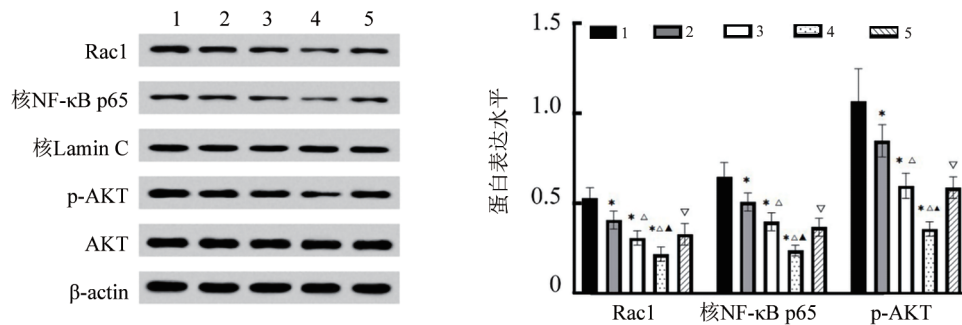
T24 细胞移植瘤实验检测结果(图 8)显示, 与对照组比较, TAX 组移植瘤体积显著减少( $P < 0.05$ ); 与 TAX 组比较, TAX + ML-097 组移植瘤体积显著增加( $P < 0.05$ )。



1: Ctrl 组; 2: TAX-L 组; 3: TAX-M 组; 4: TAX-H 组; 6: TAX-H + ML-097 组。

与 Ctrl 组比较,  $*P < 0.05$ ; 与 TAX-L 组比较,  $^{\Delta}P < 0.01$ ; 与 TAX-M 组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ ; 与 TAX-H 组比较,  $\nabla P < 0.05$ 。

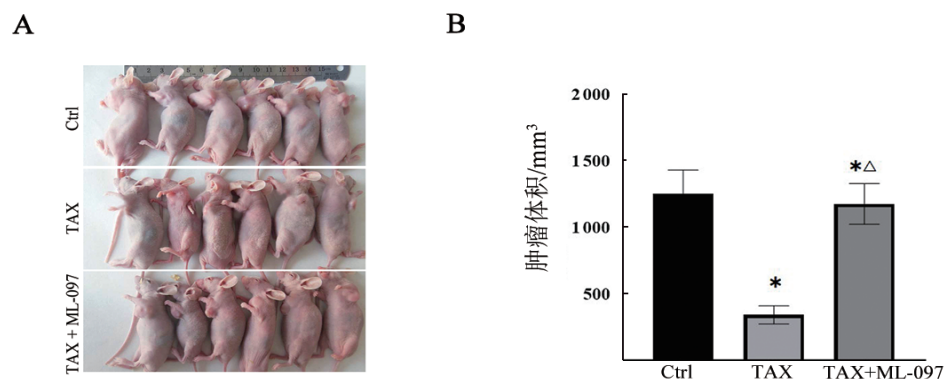
图 6 WB 法检测各组 T24 细胞中 BAX、Bcl-2、N-cadherin 和 E-cadherin 蛋白的表达



1: Ctrl 组; 2: TAX-L 组; 3: TAX-M 组; 4: TAX-H 组; 5: TAX-H + ML-097 组。

与 Ctrl 组比较,  $*P < 0.05$ ; 与 TAX-L 组比较,  $^{\Delta}P < 0.01$ ; 与 TAX-M 组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ ; 与 TAX-H 组比较,  $\nabla P < 0.05$ 。

图 7 WB 法检测各组 T24 细胞中 Rac1、p-AKT、NF-κB p65 蛋白的表达



A: 各组移植瘤小鼠; B: 各组移植瘤的体积。与 Ctrl 组比较,  $*P < 0.05$ , 与 TAX 组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ 。

图 8 TAX 对裸鼠 T23 细胞移植生长的影响

### 3 讨论

膀胱癌是一个全球性的健康问题,其发病率和预后存在性别差异<sup>[5]</sup>。膀胱癌具有不同的分子亚型,如,非肌肉浸润性膀胱癌(non-muscle-invasive bladder cancer, NMIBC)和肌肉浸润性膀胱癌(muscle-invasive bladder cancer, MIBC),不同疾病类型具有多种发病机制<sup>[1]</sup>。MIBC 的治疗难度高于 NMIBC,且 MIBC 病死率更高<sup>[5]</sup>。如果在早期肌肉浸润之前检测出并及时治疗,通常疾病的预后更好<sup>[5]</sup>。当发展成 MIBC 后,癌细胞可能通过淋巴系统进行转移,导致存活率降低,此时,常规放射治疗实用性偏低且癌细胞对放射治疗的敏感性偏低<sup>[13]</sup>。此外,临床治疗多采用根治性膀胱切除术、放疗、化疗等方法,但这些治疗手段会给患者机体带来明显影响,损害生活质量<sup>[14]</sup>。随着对膀胱癌生物学不断深入的发展,越来越多的研究<sup>[15]</sup>证明,靶向治疗和免疫治疗膀胱癌具有较大前景。

TAX 已被证实具有多种药理活性,包括抗炎、抗癌、抗病毒和调节氧化应激等<sup>[16]</sup>,可以预防阿尔茨海默病、抗高尿酸、心脏保护、肝保护、抗血管生成、镇痛、抗水肿等<sup>[17]</sup>。在抗炎方面,TAX 可以减少促炎细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-6 生成,缓解氧化应激造成的滋养层细胞损伤,具有良好的保护作用<sup>[18]</sup>;在抗癌方面,TAX 可以促进肝癌细胞 HepG2 和 Huh7 凋亡,以保护肝脏免受损伤<sup>[19]</sup>;在抗病毒方面,TAX 可以减少 SARS-CoV-2 诱导的 PGE2 产生,提高机体的抗病毒防御和免疫力<sup>[20]</sup>;在中枢神经系统中,TAX 可以抑制 A $\beta$  原纤维形成、保护神经元并改善脑血流量、认知能力和运动障碍方面的问题<sup>[21]</sup>。在本研究中,TAX 可以明显抑制膀胱癌细胞的恶性生物学行为且促进其凋亡、抑制间皮-内皮细胞转化进程和移植瘤生长,但 TAX 对正常膀胱细胞的影响有待进一步研究。

Rac1 是经典的 Rho 鸟苷三磷酸水解酶家族成员,该家族主要在细胞骨架组织、基因表达调控和细胞迁移方面发挥重要作用<sup>[9]</sup>。Rac 组中有 4 个成员: Rac1、Rac2、Rac3 和 RhoG,都参与肌动蛋白的组织调控。Rac1 是研究较多的重要蛋白之一,主要参与细胞肌动蛋白骨架重组,调节基本细胞功能,如细胞增殖、细胞存活和细胞运动<sup>[22]</sup>。Rac1 活性的调节受到多种蛋白严格调控,影响其定位、表达水平和功能<sup>[9]</sup>。Rac1 启动一系列信号网络,包括肌动蛋白细胞骨架重构的调节复合物、蛋白激酶(PAK, MAPK)和转录因子(NF- $\kappa$ B, Wnt/ $\beta$ -连环蛋白/TCF, STAT3, Snail)的激活、活性氧(NADPH 氧化酶全酶,线粒体 ROS)的产生,该 GTPase 及其调节因子和效应系统可能参与

肿瘤从发生发展的不同过程<sup>[23]</sup>。此外,有研究<sup>[24]</sup>表明,NF- $\kappa$ B 可以介导 AKT 相关信号通路的传导抑制膀胱癌细胞的迁移、侵袭和转移。本研究结果表明,TAX 通过下调 Rac1 蛋白表达、核内 NF- $\kappa$ B p65 水平和 p-AKT 水平抑制膀胱癌细胞增殖、迁移和侵袭能力,而 Rac1 激活剂 ML-097 可逆转高浓度 TAX 对膀胱癌细胞恶性进展的抑制作用,进一步说明 TAX 可能通过抑制 Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT 信号通路,进而影响膀胱癌细胞活力。

综上所述,TAX 可能通过抑制 Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT 信号通路相关蛋白表达,进而抑制膀胱癌细胞增殖、迁移和侵袭。本研究仍存在不足之处,仅在细胞水平上研究了 TAX 对膀胱癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响,没有找出 TAX 影响 Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT 信号通路中最主要的关键蛋白,后续研究将进一步找出 Rac1/NF- $\kappa$ B/AKT 信号通路中最关键的蛋白进行深入研究。

### [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 Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
- [2] DYRSKJØT L, HANSEL D E, EFSTATHIOU J A, *et al.* Bladder cancer[J/OL]. *Nat Rev Dis Primers*, 2023, 9(1): 58[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37884563/>. DOI:10.1038/s41572-023-00468-9.
- [3] TEOH J Y, HUANG J J, KO W Y, *et al.* Global trends of bladder cancer incidence and mortality, and their associations with tobacco use and gross domestic product per capita[J]. *Eur Urol*, 2020, 78(6): 893-906. DOI:10.1016/j.eururo.2020.09.006.
- [4] DOBRUCH J, OSZCZUDŁOWSKI M. Bladder cancer: current challenges and future directions[J/OL]. *Medicina*, 2021, 57(8): 749 [2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34440955/>. DOI: 10.3390/medicina57080749.
- [5] LENIS A T, LEC P M, CHAMIE K, *et al.* Bladder cancer: a review[J]. *JAMA*, 2020, 324(19): 1980-1991. DOI:10.1001/jama.2020.17598.
- [6] DAS A, BAIDYA R, CHAKRABORTY T, *et al.* Pharmacological basis and new insights of taxifolin: a comprehensive review[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 142: 112004[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34388527/>. DOI:10.1016/j.biopha.2021.112004.
- [7] SUNIL C, XU B J. An insight into the health-promoting effects of taxifolin (dihydroquercetin) [J/OL]. *Phytochemistry*, 2019, 166: 112066[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31325613/>. DOI:10.1016/j.phytochem.2019.112066.
- [8] LIANG J X, OYANG L, RAO S, *et al.* Rac1, A potential target for tumor therapy[J/OL]. *Front Oncol*, 2021, 11: 674426[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34079763/>. DOI: 10.3389/fonc.2021.674426.
- [9] MARGIOTTA A, BUCCI C. Coordination between Rac1 and rab proteins: functional implications in health and disease[J/OL]. *Cells*,



- 2019, 8(5): 396[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31035701/>. DOI:10.3390/cells8050396.
- [10] DE P, ASKE J C, DEY N. RAC1 takes the lead in solid tumors[J/OL]. *Cells*, 2019, 8(5): 382[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31027363/>. DOI:10.3390/cells8050382.
- [11] SAUZEAU V, BEIGNET J, BAILLY C. Rac1 as a target to treat dysfunctions and cancer of the bladder[J/OL]. *Biomedicines*, 2022, 10(6): 1357[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35740379/>. DOI:10.3390/biomedicines10061357.
- [12] 余金玉, 韩静, 张营, 等. 花旗松素调控内质网应激PERK-ATF4通路减轻高血压大鼠心肌肥厚的机制研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(09): 54-62. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-7856.2023.09.007
- [13] GIRARD A, ROUANNE M, TACONET S, *et al.* Integrated analysis of 18F-FDG PET/CT improves preoperative lymph node staging for patients with invasive bladder cancer[J]. *Eur Radiol*, 2019, 29(8): 4286-4293. DOI:10.1007/s00330-018-5959-0.
- [14] WERNTZ R P, ADAMIC B, STEINBERG G D. Emerging therapies in the management of high-risk non-muscle invasive bladder cancer (HRNMIBC)[J]. *World J Urol*, 2019, 37(10): 2031-2040. DOI:10.1007/s00345-018-2592-0.
- [15] LIU S, CHEN X, LIN T X. Lymphatic metastasis of bladder cancer: molecular mechanisms, diagnosis and targeted therapy[J]. *Cancer Lett*, 2021, 505: 13-23. DOI:10.1016/j.canlet.2021.02.010.
- [16] YANG R, YANG X X, ZHANG F. New perspectives of taxifolin in neurodegenerative diseases[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2023, 21(10): 2097-2109. DOI:10.2174/1570159X21666230203101107.
- [17] LI J, HU L, ZHOU T, *et al.* Taxifolin inhibits breast cancer cells proliferation, migration and invasion by promoting mesenchymal to epithelial transition via  $\beta$ -catenin signaling[J/OL]. *Life Sci*, 2019, 232: 116617[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31260685/>. DOI:10.1016/j.lfs.2019.116617.
- [18] BRUIĆ M, PIRKOVIĆ A, VILOTIĆ A, *et al.* Cytoprotective and genoprotective effects of taxifolin against oxidative damage in HTR-8/SVneo human trophoblast cells[J]. *Mutagenesis*, 2023, 38(1): 64-70. DOI:10.1093/mutage/geac013.
- [19] BUTT S S, KHAN K, BADSHAH Y, *et al.* Evaluation of proapoptotic potential of taxifolin against liver cancer[J/OL]. *PeerJ*, 2021, 9: e11276[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34113483/>. DOI:10.7717/peerj.11276.
- [20] RICKE-HOCH M, STELLING E, LASSWITZ L, *et al.* Impaired immune response mediated by prostaglandin E2 promotes severe COVID-19 disease[J/OL]. *PLoS One*, 2021, 16(8): e0255335[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34347801/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0255335.
- [21] MIN H Y, JANG H J, PARK K H, *et al.* The natural compound gracillin exerts potent antitumor activity by targeting mitochondrial complex II[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(11): 810[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31649278/>. DOI:10.1038/s41419-019-2041-z.
- [22] LEE C F, CARLEY R E, BUTLER C A, *et al.* Rac GTPase signaling in immune-mediated mechanisms of atherosclerosis[J/OL]. *Cells*, 2021, 10(11): 2808[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34831028/>. DOI:10.3390/cells10112808.
- [23] KOTELEVETS L, CHASTRE E. Rac1 signaling: from intestinal homeostasis to colorectal cancer metastasis[J/OL]. *Cancers*, 2020, 12(3): 665[2025-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32178475/>. DOI:10.3390/cancers12030665.
- [24] YU X D, WU T, LIAO B, *et al.* Anticancer potential of corilagin on T24 and TSGH 8301 bladder cancer cells via the activation of apoptosis by the suppression of NF- $\kappa$ B-induced P13K/Akt signaling pathway[J]. *Environ Toxicol*, 2022, 37(5): 1152-1159. DOI:10.1002/tox.23472.

[收稿日期] 2025-02-10

[修回日期] 2025-04-25

[本文编辑] 向正华