DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.08.005

·基础研究·

扁蒴藤素经AKT/GSK-3β信号通路增强乳腺癌MCF-7细胞对多柔比星的敏感性

程超,王胄,张卫群(新疆维吾尔自治区人民医院 乳腺甲状腺科,新疆 乌鲁木齐 830000)

[摘 要] **目的**:探讨扁蒴藤素(PT)通过蛋白激酶B(AKT)/糖原合成酶激酶-3β(GSK-3β)信号通路对人乳腺癌细胞MCF-7多柔比星(DOX)敏感性的影响。**方法**:体外培养MCF-7细胞并建立DOX耐药细胞MCF-7/DOX。MCF-7细胞设NC组、L-PT组(2 μmol/L PT)、M-PT组(4 μmol/L PT)、H-PT组(8 μmol/L PT)、H-PT + SC79组(8 μmol/L PT + 10 μmol/L的AKT/GSK-3β信号通路抑制剂SC79)、H-PT + LY294002组(8 μmol/L PT + 2.5 μmol/L的AKT/GSK-3β信号通路激活剂LY294002)。MCF-7/DOX细胞设MCF-7/DOX组(未处理)、DOX组(50 nmol/L DOX)、PT + DOX组(8 μmol/L PT和50 nmol/L DOX)、PT + DOX + SC79组(8 μmol/L PT + 50 nmol/L DOX + 10 μmol/L SC79)、PT + DOX + LY294002组(8 μmol/L PT + 50 nmol/L DOX + 2.5 μmol/L LY294002)。采用MTT法、平板克隆实验、划痕愈合实验、Transwell实验及WB法分别检测细胞增殖、集落形成数、迁移、侵袭和AKT/GSK-3β信号通路蛋白表达。建立MCF-7细胞裸鼠移植瘤模型,观察PT对移植瘤生长、移植瘤组织中AKT/GSK--3β信号通路蛋白表达的影响。**结果**:与NC组相比,L-PT、M-PT、H-PT组MCF-7细胞增殖率、集落形成数、划痕愈合率、侵袭细胞数及p-AKT、p-GSK-3β蛋白表达均呈PT浓度依赖性降低(均$P < 0.05$);与H-PT组对比,H-PT + SC79组MCF-7细胞上述指标变化趋势与上述相反,PT + DOX + LY294002组MCF-7细胞上述指标变化趋势与上述相同(均$P < 0.05$)。MCF-7/DOX组与DOX组细胞增殖率、集落形成数、划痕愈合率、侵袭细胞数及p-AKT、p-GSK-3β蛋白表达无明显差异(均$P > 0.05$);分别与MCF-7/DOX组、DOX组对比,PT + DOX组MCF-7/DOX细胞上述指标均降低(均$P < 0.05$);对比PT + DOX组,PT + DOX + SC79组上述指标均升高,PT + DOX + LY294002组上述指标均降低(均$P < 0.05$)。裸鼠移植瘤实验显示,与对照组和DOX相比,PT + DOX组移植瘤质量、体积、p-AKT、p-GSK-3β蛋白表达均降低(均$P < 0.05$)。**结论**:PT抑制乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭,并增强其对DOX的化疗敏感性,其机制与抑制AKT/GSK-3β信号通路有关。

[关键词] 扁蒴藤素;蛋白激酶B/糖原合成酶激酶-3β;乳腺癌;MCF-7细胞;化疗敏感性
[中图分类号] R737.9; R730.53 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385x(2025) 08-0823-08

Pristimerin enhances the doxorubicin sensitivity of breast cancer MCF-7 cells *via* the AKT/GSK-3β signaling pathway

CHENG Chao, WANG Zhou, ZHANG Weiqun (Department of Breast and Thyroid, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 83000, Xinjiang, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of pristimerin (PT) on doxorubicin (DOX) sensitivity of huamn breast cancer cell MCF-7 by regulating the protein kinase B (AKT)/glycogen synthase kinase-3β (GSK-3β) signaling pathway. **Methods:** MCF-7 cells were cultured *in vitro* and used to construct a DOX resistant cell line MCF-7/DOX. MCF-7 cells were separated into the NC group, the L-PT group (2 μmol/L PT), the M-PT group (4 μmol/L PT), the H-PT group (8 μmol/L PT), the H-PT+SC79 group (8 μmol/L PT + 10 μmol/L AKT/GSK-3β signaling pathway inhibitor SC79), and the H-PT + LY294002 group (8 μmol/L PT + 2.5 μmol/L AKT/GSK-3β signaling pathway activator LY294002). MCF-7/DOX cells were separated into the MCF-7/DOX group (untreated), the DOX group (50 nμmol/L DOX), PT + DOX group (8 μmol/L PT and 50 nμmol/L DOX), the PT + DOX + SC79 group (8 μmol/L PT + 50 nμmol/L DOX + 10 μmol/L SC79), and the PT + DOX + LY294002 group (8 μmol/L PT + 50 nμmol/L DOX + 2.5 μmol/L LY294002). MTT assay, plate cloning assay, scratch assay, Transwell assay, and WB assay were applied respectively to determine cell proliferation, colony formation, migration, invasion, and AKT/GSK-3β signaling pathway protein expression in each group. Establish a MCF-7 cell

[基金项目] 新疆维吾尔自治区自然科学基金(No. 2020D01C117)
[作者简介] 程超(1988—),男,硕士,主治医师,主要从事乳腺、甲状腺肿瘤诊治相关研究
[通信作者] 张卫群(扫码获取作者联系方式)

xenograft model in nude mice to observe the effects of PT on tumor growth and the protein expression of the AKT/GSK-3β signaling pathway in the tumor tissues. **Results:** Compared with the NC group, the proliferation rate, colony formation rate, scratch healing rate, invasive cell count, and the p-AKT, p-GSK-3β protein expressions of MCF-7 cells in the L-PT group, the M-PT group, and the H-PT group all showed a PT concentration dependent decrease (all $P < 0.05$). Compared with the H-PT group, the trend of changes in the above indicators of MCF-7 cells in the H-PT + SC79 group was opposite to the above, while the trend of changes in the above indicators of MCF-7 cells in the PT + DOX + LY294002 group was the same (all $P < 0.05$). There was no significant difference in the proliferation rate, colony formation number, scratch healing rate, invasive cell count, and expressions of p-AKT and p-GSK-3β proteins between the MCF-7/DOX group and the DOX group (all $P > 0.05$). Compared with the MCF-7/DOX group and the DOX group, the PT + DOX group showed a decrease in the above indicators of MCF-7/DOX cells (all $P < 0.05$). Compared with the PT + DOX group, the above indicators in the PT + DOX + SC79 group all increased, while the above indicators in the PT + DOX + LY294002 group all decreased (all $P < 0.05$). Transplant tumor experiment in nude mice showed that compared with those in the control group and the DOX group, the mass and volume of transplant tumors, p-AKT and P-GSK-3β protein expressions in the PT + DOX group all decreased (all $P < 0.05$). **Conclusion:** PT can inhibit the proliferation, migration, and invasion of BC cells, and enhance their sensitivity to DOX chemotherapy., Its mechanism is related to the inhibition of the AKT/GSK-3β signaling pathway.

[Key words] pristimerin (PT); protein kinase B/glycogen synthase kinase-3β (AKT/GSK-3β); breast cancer; MCF-7 cell; chemotherapy sensitivity

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(8): 823-830. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.08.005]

乳腺癌起源于乳腺上皮组织，是女性最常见的恶性肿瘤，也是仅次于肺癌的第二大致命肿瘤类型[1]。近年来，伴随晚育、少育及生活方式紊乱日益普遍，乳腺癌发病率以年均5%的速率上升，严重危害女性身心健康[2]。手术联合放化疗及靶向治疗是乳腺癌的主要治疗策略，其中化疗是必不可少的传统治疗方法，但乳腺癌存在显著异质性，经多周期化疗后，常出现获得性耐药，导致化疗效果降低，显著影响患者生存与预后[3]。因此，阐明乳腺癌耐药机制，提升细胞化疗敏感性对乳腺癌治疗至关重要。蛋白激酶B（protein kinase B, AKT）是一种丝/苏氨酸激酶，在多种恶性肿瘤中被高度激活，激活后，AKT被转移到不同的亚细胞区室，以磷酸化形式调控其下游靶基因糖原合成酶激酶3β（glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β），参与肿瘤细胞的迁移和转移[4,5]。既往研究[6]显示，抑制PI3K/AKT/GSK-3β信号通路可增强肉骨瘤细胞对多柔比星（doxorubicin, DOX）的敏感性。因此，推测AKT/GSK-3β信号通路可能与乳腺癌细胞化疗敏感性有关。扁蒴藤素（pristimerin, PT）是一种广泛存在于木犀科、卫矛科家族植物中的醌甲醚三萜类化合物，可诱导细胞凋亡和自噬，抑制血管生成和癌症转移[7]。临床报道[8]显示，PT可有效抑制肝细胞癌细胞的恶性生物学行为，增强肝细胞癌细胞对吉西他滨的敏感性。然而，PT是否通过调控AKT/GSK-3β信号通路来影响乳腺癌细胞化疗敏感性尚不明确。因此，本研究基于AKT/GSK-3β信号通路探讨PT对乳腺癌细胞化疗敏感性的影响，以期为乳腺癌治疗提供参考。

1　材料与方法

1.1　主要材料与试剂

人乳腺癌细胞MCF-7购自中国科学院上海细胞库；30只SPF级4周龄雌性BALB/c-nu裸鼠购自北京华阜康生物科技有限公司[生产许可证号：SCXK（京）2024-0003]，体质量16~20 g。PT（纯度≥99%）、AKT的抑制剂SC79和激活剂LY294002均购自美国Med Chem Express公司，DOX购自北京百奥莱博科技有限公司，CCK-8试剂盒、MTT试剂盒、结晶紫染液均购自美国Abcam公司，Matrigel基质胶购自美国Corning公司，AKT、p-AKT、GSK-3β、p-GSK-3β及β-actin一抗均购自北京Solarbio公司。

1.2　建立DOX耐药MCF-7/DOX细胞并筛选PT最佳作用浓度

MCF-7/DOX细胞构建[9]：MCF-7细胞培养于含10% FBS的DMEM培养基，取对数期细胞，置于50 nmol/L DOX培养基中培养72 h，转入无DOX的培养基中恢复细胞状态，随后再次置于含50 nmol/L DOX的培养基中，上述步骤重复4次，得到耐DOX的MCF-7/DOX细胞。

PT浓度筛选：取对数期MCF-7细胞，分别以0、1、2、4、8、16 μmol/L的PT处理[10]，培养48 h后加入20 μL CCK-8试剂处理1.5 h，按照CCK-8试剂盒说明书测定450 nm处光密度（*D*）值，通过MCF-7细胞增殖率筛选适宜浓度PT。

1.3　MCF-7及MCF-7/DOX细胞分组

将对数生长期MCF-7细胞随机分为NC组、L-PT组（2 μmol/L PT）、M-PT组（4 μmol/L PT）、H-PT组（8 μmol/L PT）、H-PT + SC79组（8 μmol/L PT + 10 μmol/L SC79[11]）、H-PT + LY294002组（8 μmol/L PT + 2.5 μmol/L LY294002[11]）。

MCF-7/DOX细胞分为MCF-7/DOX组（未处理）、DOX组（50 nmol/L DOX）、PT + DOX组（8 μmol/L PT联合50 nmol/L DOX）、PT + DOX + SC79组（8 μmol/L PT + 50 nmol/L DOX + 10 μmol/L SC79）、PT + DOX + LY294002组（8 μmol/L PT + 50 nmol/L DOX + 2.5 μmol/L LY294002）。

1.4 MTT法检测细胞增殖

将经胰酶消化后的对数期细胞以4 × 10^3个/190 μL接种于96孔板，按1.3分组处理24 h，每孔加入25 μL MTT溶液，反应4 h，弃上清液，每孔加入150 μL DMSO溶解甲臜结晶，于490 nm测定*D*值。细胞增殖率 = [（实验组*D*值 − 空白组*D*值）/（对照组*D*值 − 空白组D值）] × 100%。

1.5 平板克隆形成实验

将MCF-7细胞、MCF-7/DOX细胞以1 × 10^3个接种于96孔板，按1.3分组处理细胞24 h，常规培养14 d，期间定期更换培养基，肉眼可见克隆形成，移除培养基，用4%的多聚甲醛固定，并用0.1%结晶紫染色30 min，洗涤、晾干后在倒置显微镜下计数克隆。

1.6 划痕愈合实验检测细胞迁移能力

细胞经胰酶消化后重悬于无血清培养基，将细胞转移到6孔板中培养至完全汇合，随后用移液器吸头在单层细胞上划痕形成无细胞带，PBS冲洗去除脱落细胞，于0、24 h后，光学显微镜观察划痕并拍照，计算划痕愈合率。划痕愈合率 =（0 h划痕面积−24 h划痕面积）/ 0 h划痕面积] × 100%。

1.7 Transwell实验检测细胞侵袭能力

用无血清培养基重悬1.3分组后的MCF-7及MCF-7/DOX细胞，按5×10^4个/200 μL接种于Transwell上室（涂布Matrigel基质胶），下室加入600 μL含血清培养基，培养48 h后用甲醇固定侵袭到下室的细胞，并用0.5%结晶紫染色，倒置荧光显微镜观察、拍照。

1.8 裸鼠移植瘤模型构建及药效评价

裸鼠饲养于新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心，使用许可证号：SYXK（新）2021-0002。本研究已经过动物福利伦理审查（审批号：KY2020101912），饲养条件：温度（24 ± 2）℃，湿度40%~60%，12 h明暗交替，每日通风，自由饮食进水。MCF-7/DOX细胞胰酶消化后重悬至1×10^6个/L，取0.2 mL接种于裸鼠腋下，之后将裸鼠置于层流罩内饲养，2周后裸鼠腋下可触及瘤块则接种成功。当肿瘤长至约80 mm^3时随机分为对照组、DOX组（25 mg/kg）、PT + DOX组（2 mg/kg[12] + 25 mg/kg），经腹腔注射给药，末次给药24 h后称量小鼠体质量，异氟烷麻醉（初始4%~5%，维持2%~3%，至意识丧失）1~3 min，颈椎脱臼处死裸鼠，剥离移植瘤并测定其体积、质量。

1.9 WB法检测蛋白质表达

收集各组细胞并用冰冷的PBS洗涤，沉淀重悬于裂解缓冲液并充分裂解，BCA法定量蛋白浓度，取40 μg蛋白行SDS-PAGE后转移到PVDF膜上，用含有5%脱脂奶粉的TBST缓冲液封闭膜，加入一抗4 ℃下过夜，TBST缓冲液洗涤3次后将膜在室温下与二抗孵育2 h，ECL法显色，Image J软件评估蛋白灰度值。

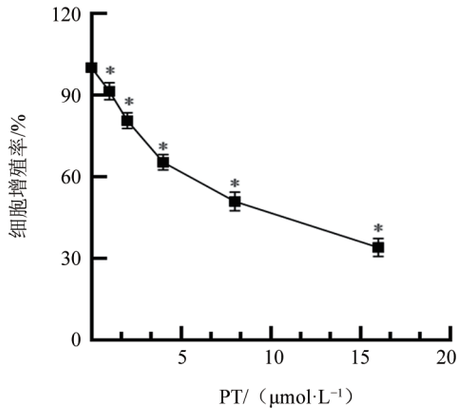
1.10 统计学处理

使用GraphPad Prism 9与SPSS26.0进行统计分析，符合正态分布的计量数据以$\bar{x} \pm s$表示，多组数据对比采用单因素方差分析，两两多重比较采用SNK-*q*检验，以$P < 0.05$或$P < 0.01$表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 PT呈剂量依赖性抑制MCF-7细胞增殖

CCK-8检测结果（图1）显示，使用不同浓度（0、1、2、4、8、16 μmol/L）的PT处理MCF-7细胞24 h后，MCF-7细胞增殖率随剂量递增而显著降低（$P < 0.05$），经计算，PT对MCF-7细胞的IC_{50}值为8.11 μmol/L，因此选择浓度为2、4、8 μmol/L的PT进行后续研究。



与0 μmol/L PT组相比，*$P < 0.05$

图1 PT对MCF-7细胞增殖的影响

2.2 PT抑制MCF-7细胞的克隆形成

克隆形成实验检测结果（图2）显示，与NC组相比，低、中、高剂量PT组MCF-7细胞增殖率及克隆形成数呈浓度依赖性下降（均$P < 0.05$）；与H-PT组相比，H-PT + SC79组上述指标回升，而H-PT + LY294002组进一步下降（均$P < 0.05$）。

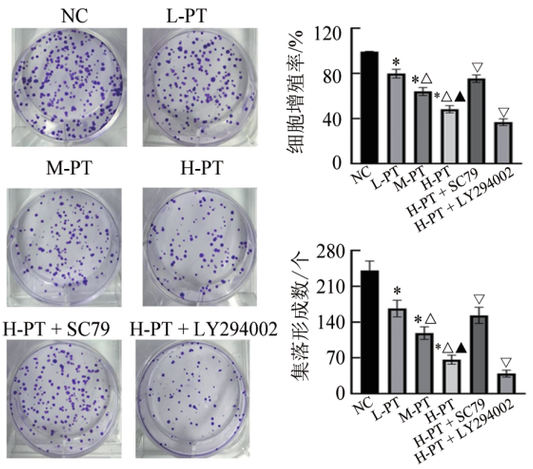
2.3 PT抑制MCF-7细胞的迁移和侵袭能力

划痕愈合实验（图3A）与Transwell实验（图3B）

检测结果显示，与NC组对比，L-PT组、M-PT组、H-PT组MCF-7细胞划痕愈合率及侵袭细胞数随PT浓度升高而显著降低（均$P<0.05$）；与H-PT组对比，H-PT + SC79组MCF-7细胞划痕愈合率及侵袭细胞数均回升，H-PT + LY294002组MCF-7细胞划痕愈合率及侵袭细胞数均进一步降低（均$P<0.05$）。

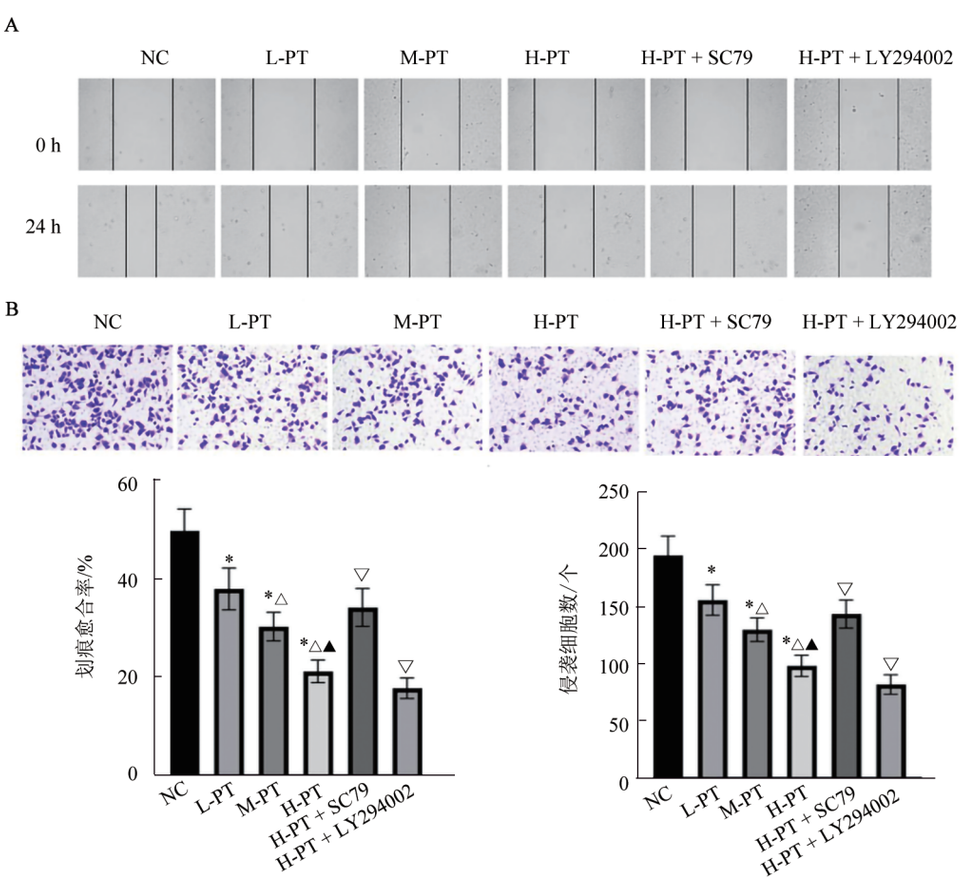
2.4　PT对MCF-7细胞AKT/GSK-3β信号通路蛋白的影响

WB检测结果（图4）显示，与NC组对比，L-PT组、M-PT组、H-PT组MCF-7细胞p-AKT、p-GSK-3β蛋白表达随PT浓度升高而显著降低（均$P<0.05$），而总AKT与GSK-3β蛋白水平在各组间差异均无统计学意义（均$P>0.05$）；与H-PT组对比，H-PT + SC79组MCF-7细胞p-AKT、p-GSK-3β蛋白表达均回升，而H-PT + LY294002组进一步降低（均$P<0.05$），AKT、GSK-3β无显著差异（$P>0.05$）。



与NC组相比，$^{*}P<0.05$；与L-PT组相比，$^{\triangle}P<0.05$；与M-PT组相比，$^{\blacktriangle}P<0.05$；与H-PT组相比，$^{\triangledown}P<0.05$。

图2　各组MCF-7细胞增殖及克隆形成情况



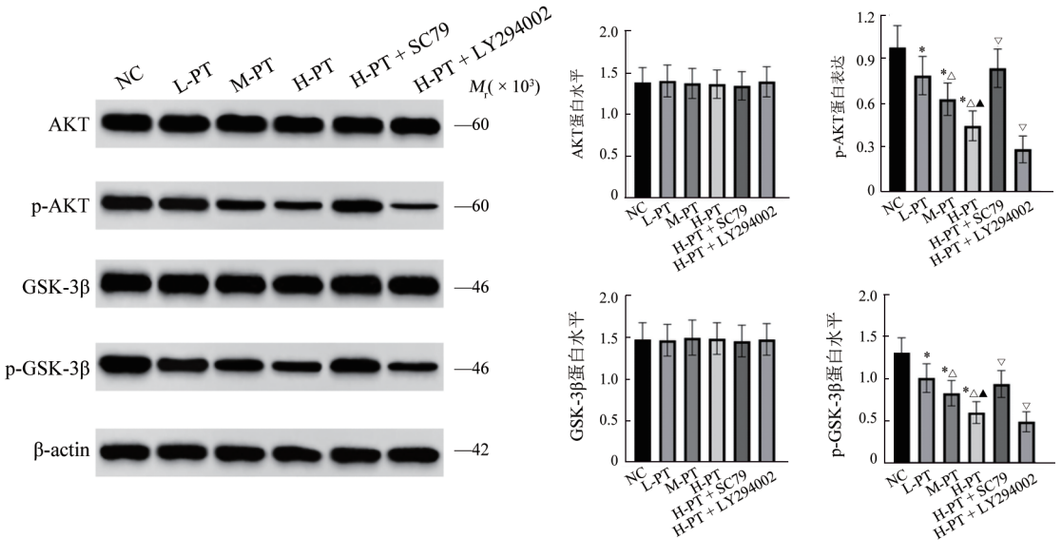
A：划痕实验检测细胞划痕愈合率（× 100）；B：Transwell实验检测侵袭细胞数（× 200）。与NC组相比，$^{*}P<0.05$；与L-PT组相比，$^{\triangle}P<0.05$；与M-PT组相比，$^{\blacktriangle}P<0.05$；与H-PT组相比，$^{\triangledown}P<0.05$。

图3　各组MCF-7细胞划痕愈合及细胞侵袭情况

2.5　PT对MCF-7/DOX细胞增殖及集落形成的影响

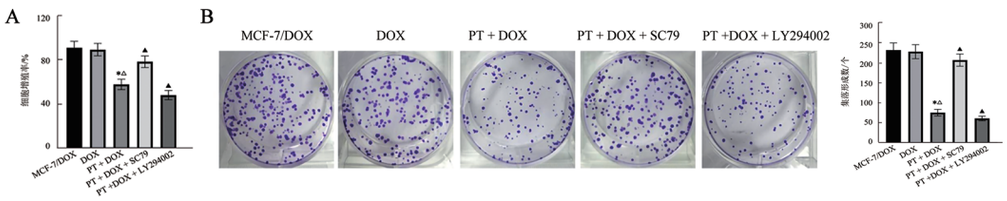
MTT法和克隆形成实验检测结果（图5）显示，MCF-7/DOX组、DOX组MCF-7/DOX细胞增殖率及克隆形成数差异无统计学意义（均$P>0.05$）；与MCF-7/DOX组、DOX组相比，PT + DOX组细胞增殖率及克隆形成数均降低（均$P<0.05$）；与PT + DOX组相比，PT + DOX + SC79组细胞增殖率及集落形成数均升高，PT + DOX + LY294002组细胞增殖率及集

落形成数均降低（$P < 0.05$）。



与NC组相比，$^{*}P < 0.05$；与L-PT组相比，$^{\triangle}P < 0.05$；与M-PT组相比，$^{\blacktriangle}P < 0.05$；与H-PT组相比，$^{\triangledown}P < 0.05$。

图4 各组MCF-7细胞AKT/GSK-3β信号通路蛋白表达



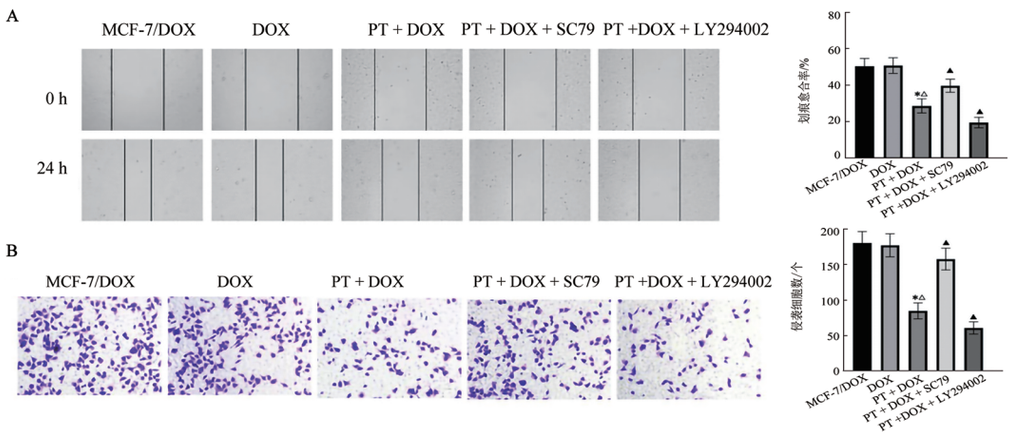
A：MTT法检测细胞的增殖能力；B：克隆形成实验检测细胞的克隆形成能力。

与MCF-7/DOX组相比，$^{*}P < 0.05$；DOX组相比，$^{\triangle}P < 0.05$；与PT + DOX组相比，$^{\blacktriangle}P < 0.05$。

图5 各组MCF-7/DOX细胞增殖及克隆形成情况

2.6 PT对MCF-7/DOX细胞迁移和侵袭的影响

划痕愈合实验（图6A）与Transwell实验（图6B）检测结果显示，MCF-7/DOX组与DOX组MCF-7/DOX细胞间的划痕愈合率及侵袭细胞数差异无统计学意义（均$P > 0.05$）；与MCF-7/DOX组、DOX组对比，PT + DOX组细胞划痕愈合率及侵袭细胞数均降低（均$P < 0.05$）；与PT + DOX组相比，PT + DOX + SC79组细胞划痕愈合率及侵袭细胞数均升高，PT + DOX + LY294002组细胞划痕愈合率及侵袭细胞数均降低（均$P < 0.05$）。



A：划痕实验检测细胞划痕愈合率（×100）；B：Transwell实验检测侵袭细胞数（× 200）。

与MCF-7/DOX组相比，$^{*}P < 0.05$；DOX组相比，$^{\triangle}P < 0.05$；与PT + DOX组相比，$^{\blacktriangle}P < 0.05$。

图6 各组MCF-7/DOX细胞迁移和侵袭情况

2.7　PT对MCF-7/DOX细胞AKT/GSK-3β信号通路蛋白的影响

WB法检测结果（图7）显示，MCF-7/DOX组与DOX组MCF-7/DOX细胞间的总AKT、GSK-3β及磷酸化蛋白水平差异无统计学意义（均$P>0.05$）；与MCF-7/DOX组、DOX组相比，PT + DOX组细胞p-AKT、p-GSK-3β蛋白表达均降低（均$P<0.05$），总AKT与GSK-3β水平差异无统计学意义（均$P>0.05$）；与PT + DOX组相比，PT + DOX + SC79组细胞p-AKT、p-GSK-3β蛋白表达均升高，PT + DOX + LY294002组细胞p-AKT、p-GSK-3β蛋白表达均降低（均$P<0.05$），AKT、GSK-3β蛋白表达无显著差异（均$P>0.05$）。

2.8　PT明显抑制MCF-7/DOX细胞裸鼠移植瘤的生长

与对照组对比，DOX组裸鼠体质量及瘤质量、瘤体积差异无统计学意义（均$P>0.05$），PT + DOX组体质量显著增加，瘤质量、瘤体积显著降低（均$P<0.05$），见图8。

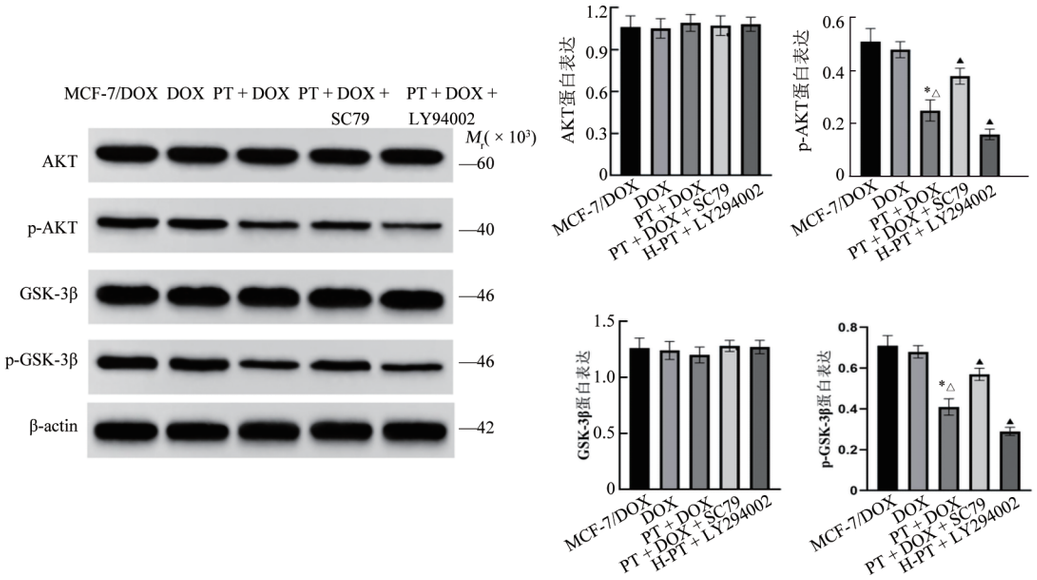
2.9　PT抑制移植瘤组织中AKT/GSK-3β通路的磷酸化水平

WB检测结果（图9）显示，与对照组相比，DOX组裸鼠肿瘤组织中AKT、p-AKT、GSK-3β、p-GSK-3β蛋白表达差异无统计学意义（均$P>0.05$），PT + DOX组p-AKT、p-GSK-3β蛋白表达均降低（均$P<0.05$），AKT、GSK-3β蛋白表达无显著差异（均$P>0.05$）。

3　讨　论

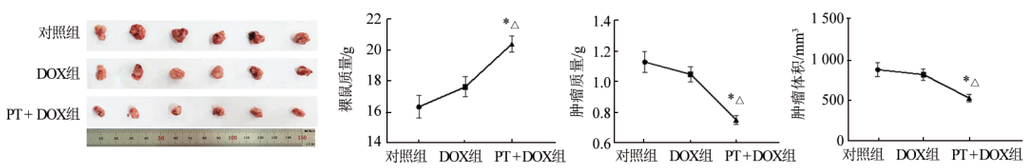
乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤之一，是一种高度异质的恶性肿瘤，细胞及分子特征差异显著[13]。目前，乳腺癌治疗方法包括手术、放化疗、内分泌调节等，其中手术是针对早期乳腺癌的首选治疗方法，然而多数患者确诊时已属晚期，增加治疗难度[14]。手术切除联合术后辅助化疗是晚期乳腺癌患者主要治疗手段，可显著提高晚期乳腺癌患者生存率。DOX是乳腺癌化疗常用蒽环类抗生素，具有光谱抗癌和杀伤力强等特点，然而长期应用易产生耐药，疗效显著降低[15-16]。因此，探寻可增强化疗敏感性的新型抗癌策略对乳腺癌患者治疗尤为重要。

天然产物蕴含丰富生物活性成分，其抗癌活性受到广大研究者关注。PT是一种三萜类奎宁化合物，长期以来一直被用于抗疟疾、抗菌、抗炎等，最近



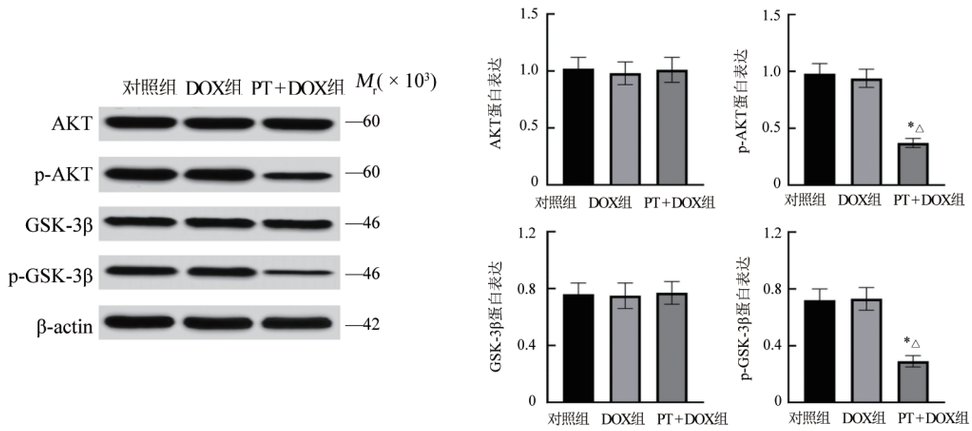
与MCF-7/DOX组相比，$^{*}P<0.05$；DOX组相比，$^{\triangle}P<0.05$；与PT + DOX组相比，$^{\blacktriangle}P<0.05$。

图7　各组MCF-7/DOX细胞AKT/GSK-3β通路蛋白对比



与对照组对比，$^{*}P<0.05$；与DOX组对比，$^{\triangle}P<0.05$。

图8　各组裸鼠肿瘤质量和肿瘤体积对比



与对照组对比，$^{*}P < 0.05$；与DOX组对比，$^{\triangle}P < 0.05$。

图9　各组裸鼠肿瘤组织相关蛋白质表达情况

研究[17]发现，PT可显著诱导肺癌、神经胶质瘤及前列腺癌细胞凋亡并抑制增殖。LI等[7]研究显示，PT可呈剂量依赖性方式诱导肺癌细胞凋亡、抑制细胞迁移和侵袭，展现出良好的的抗肺癌潜力。本研究以不同浓度PT处理MCF-7细胞，结果发现：PT在一定范围内呈剂量依赖性抑制MCF-7细胞增殖、迁移和侵袭，提示PT在乳腺癌中表现为抗肿瘤特性，进一步证实了PT的抗肿瘤作用。CHEN等[18]研究发现，PT不仅具有抗癌活性，还可增强非小细胞肺癌细胞对紫杉醇的化疗敏感性。因而推测PT对乳腺癌细胞化疗敏感性可能同样具有增强作用。本研究结果显示，相比DOX单独处理，以PT干预DOX处理下的MCF-7细胞，可有效抑制MCF-7/DOX细胞增殖、迁移和侵袭，提示PT可增强MCF-7细胞化疗敏感性，发挥抗乳腺癌功效。

AKT是一种进化上保守的丝/苏氨酸蛋白激酶，磷酸化的AKT可促进EMT进程，参与多种恶性肿瘤细胞常见的生物学行为[19]。GSK-3β是AKT的经典下游，AKT的磷酸化可导致GSK-3β活化，常与AKT共同作用参与EMT[20]。AKT/GSK-3β信号通路激活可促进食管鳞癌细胞EMT的发生，促进食管鳞癌的发展[21]。ZHANG等[22]研究显示，酸敏离子通道1a可通过AKT/GSK-3β/Snail通路促进EMT，进而介导肝细胞癌的化疗耐药。本研究结果显示，对比DOX组，与DOX组相比，PT联合DOX显著下调MCF-7/DOX细胞p-AKT及p-GSK-3β水平，表明AKT/GSK-3β信号通路可能参与PT对MCF-7细胞化疗敏感性的增强过程。以PT和AKT/GSK-3β信号通路激活剂LY294002联合干预DOX处理下的MCF-7/DOX细胞，可进一步增强PT单药的抗增殖、迁移与侵袭效应，以PT和AKT/GSK-3β信号通路抑制剂SC79联合干预DOX处理下的MCF-7/DOX细胞，可逆转PT单药的抗增殖、迁移与侵袭效应。表明PT经抑制AKT/GSK-3β通路抑制MCF-7细胞增殖、迁移与侵袭，增强MCF-7细胞对DOX的化疗敏感性。为了进一步证实该结论，进行了动物移植瘤实验，结果显示，与对照组和DOX组相比，PT组裸鼠肿瘤质量和肿瘤体积、p-AKT、p-GSK-3β蛋白均显著降低，提示在体内PT同样可通过抑制AKT/GSK-3β通路增强MCF-7细胞DOX敏感性。

综上，PT显著抑制AKT/GSK-3β磷酸化，抑制乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭，增强乳腺癌细胞对DOX的化疗敏感性，发挥抗乳腺癌作用，调节AKT/GSK-3β信号通路可能是其药理机制。然而本研究主要以细胞为研究对象，未动态监测荷瘤小鼠体质量及肿瘤质量等变化，后续需扩大动物实验规模以深入验证。

[参 考 文 献]

[1] POPA M T, NODIȚI A, PELEAȘĂ T M, *et al*. Breast cancer: a heterogeneous pathology. prognostic and predictive factors-A narrative review[J]. Chirurgia, 2025, 120(1): 32-47. DOI:10.21614/chirurgia.3100.

[2] 冯亚婵, 张皓杰, 杜朝, 等. 青蒿素通过TIGIT/CD155信号轴调控4T1乳腺癌细胞转移与凋亡[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2024, 40(1): 131-141. DOI:10.13865/j.cnki.cjbmb.2023.12.1272.

[3] CHEN Q, LIU Y Q, ZHU X L, *et al*. Increased NHE1 expression is targeted by specific inhibitor cariporide to sensitize resistant breast cancer cells to doxorubicin *in vitro* and *in vivo*[J/OL]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 211 [2025-05-25]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30849956/. DOI:10.1186/s12885-019-5397-7.

[4] WANG C Z, CAO F, CAO J H, *et al*. CD58 acts as a tumor promotor in hepatocellular carcinoma *via* activating the AKT/GSK-3β/β-catenin pathway[J/OL]. J Transl Med, 2023, 21(1): 539 [2025-05-25]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37573318/. DOI:10.1186/s12967-023-04364-4.

[5] 赵萍萍, 李美芳, 袁崇芬, 等. 异橙黄酮通过AKT/GSK-3β/β-catenin信号通路诱导胃癌AGS细胞凋亡和周期阻滞研究[J]. 中国药师, 2022, 25(1): 41-48. DOI:10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2022.01.007.

[6] QI Y B, YAO L, LIU J K, *et al*. Piperine improves the sensitivity of osteosarcoma cells to doxorubicin by inducing apoptosis and inhibiting the PI3K/AKT/GSK-3β pathway[J/OL]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1): 180 [2025-05-25]. https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/36895009/. DOI:10.1186/s13018-023-03642-7.

[7] LI J J, GUO Q R, LEI X P, *et al*. Pristimerin induces apoptosis and inhibits proliferation, migration in H1299 Lung Cancer Cells[J]. J Cancer, 2020, 11(21): 6348-6355. DOI:10.7150/jca.44431.

[8] 于彬, 于勇, 时磊, 等. 扁蒴藤素对肝细胞癌细胞生物学行为及吉西他滨化疗敏感性的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(2): 221-230.

[9] 刘臻臻, 宋远鹏, 郑小东, 等. 益母草碱调节JAK2/STAT3信号通路对乳腺癌细胞化疗敏感性的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2023, 31(10): 1973-1979. DOI:10.13404/j.cnki.cjbhh.2023.10.014.

[10] TANG Y B, LEI Y Y, HUANG S, *et al*. Pristimerin exacerbates cellular injury in conditionally reprogrammed patient-derived lung adenocarcinoma cells by aggravating mitochondrial impairment and endoplasmic reticulum stress through EphB4/CDC42/N-WASP signaling[J/OL]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 7409853 [2025-05-25]. https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/32733636/. DOI: 10.1155/2020/7409853.

[11] 陈君, 李林艳, 赵晓勇, 等. 罗哌卡因通过AKT/GSK-3β/β-catenin信号通路对膀胱癌细胞生长和化疗效果影响[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2023, 30(20): 1208-1222. DOI:10.16073/j.cnki.cjcpt.2023.20.02.

[12] 吴雷, 王玲玲. 扁塑藤素对非小细胞肺癌增殖及线粒体膜电位的调节作用[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2021, 22(3): 319-323. DOI:10.11713/j.issn.1009-4822.2021.03.007.

[13] MOURA T, LARANJEIRA P, CARAMELO O, *et al*. Breast cancer and tumor microenvironment: the crucial role of immune cells[J/OL]. Curr Oncol, 2025, 32(3): 143[2025-05-25]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40136347/. DOI:10.3390/curroncol32030143.

[14] LEON-FERRE R A, HIEKEN T J, BOUGHEY J C. The landmark series: neoadjuvant chemotherapy for triple-negative and HER2-positive breast cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2021, 28(4): 2111-2119. DOI:10.1245/s10434-020-09480-9.

[15] 赵琳, 朱宏飞. 瑞香素调节Shh/Gli1信号通路对乳腺癌增殖、凋亡和化疗敏感性的影响[J]. 河北医药, 2024, 46(4): 534-538. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2024.04.011.

[16] XU Z, WANG X M, SUN W B, *et al*. RelB-activated GPX4 inhibits ferroptosis and confers tamoxifen resistance in breast cancer[J/OL]. Redox Biol, 2023, 68: 102952 [2025-05-25]. https://pubmed. ncbi. nlm.nih.gov/37944384/. DOI:10.1016/j.redox.2023.102952.

[17] YAN F X, LIAO R F, SILVA M, *et al*. Pristimerin-induced uveal melanoma cell death *via* inhibiting PI3K/Akt/FoxO3a signalling pathway[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(11): 6208-6219. DOI: 10.1111/jcmm.15249.

[18] CHEN C, DU S Y, ZHONG W, *et al*. Accurate delivery of pristimerin and paclitaxel by folic acid-linked nano-micelles for enhancing chemosensitivity in cancer therapy[J/OL]. Nano Converg, 2022, 9(1): 52 [2025-05-25]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36427092/. DOI: 10.1186/s40580-022-00343-5.

[19] ZHAO H Q, WANG L, WANG S F, *et al*. CHN1 promotes epithelial-mesenchymal transition *via* the Akt/GSK-3β/Snail pathway in cervical carcinoma[J/OL]. J Transl Med, 2021, 19(1): 295[2025-05-25]. https: //pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/34238315/. DOI: 10.1186/s12967-021-02963-7.

[20] 竺东杰, 邹杰, 余史丹, 等. 葛根素通过抑制PI3K/Akt/GSK-3β信号通路诱导人肾癌786-O细胞凋亡的研究[J]. 浙江中西医结合杂志, 2023, 33(10): 893-898.

[21] 孙盈, 杨锋, 夏靖华, 等. HIP1影响食管鳞癌Akt/GSK3β信号通路及EMT相关蛋白表达分析[J]. 肿瘤学杂志, 2020, 26(5): 407-412.

[22] ZHANG Y C, CAO N D, GAO J F, *et al*. ASIC1a stimulates the resistance of human hepatocellular carcinoma by promoting EMT *via* the AKT/GSK3β/Snail pathway driven by TGFβ/Smad signals [J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(10): 2777-2792. DOI: 10.1111/jcmm.17288.

［收稿日期］ 2024-11-03　　［修回日期］2025-05-26
［本文编辑］ 黄静怡