

苦豆碱通过调节 Hippo 通路抑制胃癌细胞恶性进程

谭琪琪^{1,2}, 兰冰雪^{1,2}, 张军华³, 黄 海^{1,2}

(¹ 贵州医科大学附属医院临床检验中心, 贵阳 550004;

² 贵州医科大学医学检验学院, 贵阳 550004; ³ 中南大学湘雅三医院输血科, 长沙 410013)

摘要 **目的** 探讨苦豆碱(Alo)对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用。**方法** 采用0、100、200 $\mu\text{mol/L}$ Alo处理人胃癌细胞系HGC-27和AGS。CCK-8检测细胞存活率;克隆形成实验检测细胞增殖;流式细胞术检测细胞凋亡;划痕和Transwell迁移实验检测细胞迁移;Transwell侵袭实验检测细胞侵袭;Western blot检测增殖、凋亡、迁移、侵袭及Hippo通路相关蛋白表达。**结果** 与对照组比较,100、200 $\mu\text{mol/L}$ Alo处理细胞后存活率、克隆形成数、细胞迁移和侵袭数量明显减少,细胞凋亡率明显升高($P < 0.05$),增殖细胞核抗原(PCNA)、B细胞淋巴瘤/白血病-2蛋白(Bcl-2)、神经钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、带PDZ结合基序的转录共激活因子(TAZ)明显减少,Bcl-2相关X蛋白(Bax)、磷酸化Yes相关蛋白(p-YAP)、大肿瘤抑制因子1/2(LATS1/2)明显增加($P < 0.05$)。**结论** Alo通过调节Hippo信号通路抑制胃癌细胞HGC-27、AGS增殖、迁移和侵袭。

关键词 苦豆碱;胃癌;Hippo信号通路;HGC-27细胞;AGS细胞

中图分类号 R 735.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)10-1857-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.10.011

胃癌(gastric cancer, GC)是全球恶性肿瘤中第五大较为常见的癌症,在恶性肿瘤中其发病率排第四、病死率排第三,发病大多在中晚期,且预后较差^[1]。复发转移率高、药物毒性大及耐药性问题严重等一直是GC治疗存在的困难,目前临床上没有好的治疗手段,因此,寻找高效低毒的新治疗手段和策略尤为重要。肿瘤药物治疗出现耐药性和毒副作用,天然化合物具有疗效好,毒副作用小等优势。苦豆碱(aloperine, Alo)是一种从苦参中分离的天然化合物,其具有多种生物活性,包括抗肿瘤、抗感染、抗氧化、抗病毒等^[2]。目前,Alo在肿瘤中对多个信号通路均有调节作用,比如参与磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/雷帕霉素靶蛋白(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin, PI3K/AKT/mTOR)、核因子 κB (nuclear factor kappa B, NF- κB)、Ras蛋白等信号调节机制,抑制前列腺癌、肝癌、乳腺癌、膀胱癌等疾病进程^[3]。

Hippo信号通路参与细胞增殖、组织修复等重要功能,该通路失调常见于多种肿瘤中,包括GC^[4]。通路中的效应分子YAP/带PDZ结合基序的转录共激活因子(transcriptional co-activator with PDZ-binding motif, TAZ)在疾病中起着关键作用,LATS1/2可以磷酸化下游YAP或TAZ,促进其细胞质保留和蛋白酶体降解,进而抑制肿瘤的发生发展,因此,靶向Hippo通路可以治疗肿瘤^[5]。然而,Alo通过Hippo通路调控GC进程及机制相对有限,本研究将采用人GC细胞系HGC-27和AGS,探究Alo对GC细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭以及上皮间质转化的影响,为GC的治疗提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系 GC细胞系HGC-27和AGS细胞由武汉普诺赛生命科技有限公司提供。HGC-27细胞属于未分化胃癌,恶性程度较高。AGS细胞属于中分化胃癌,恶性程度低。

1.1.2 主要材料和试剂 Alo购自美国MCE公司(货号:HY-13516),Matrigel Matrix基质胶购自美国BD公司(货号:356234),CCK-8试剂盒试剂购自大连博格林生物科技有限公司(货号:MA0218),二甲基亚砷、4%组织细胞固定液、RIPA裂解液(货号:D8371、P1110、R0010)、BCA蛋白浓度测定试剂盒

2025-06-14 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:82060442);贵州省科技计划项目(编号:黔科合基础-ZK[2024]一般238);贵州省卫生健康委科学技术基金项目(编号:gzwkj2024-313);湖南省自然科学基金项目(编号:2023JJ30856)

作者简介:谭琪琪,女,硕士研究生;

黄 海,男,教授,博士生导师,通信作者, E-mail: huang-hai828@gmc.edu.cn

及结晶紫染色液购自北京索莱宝公司(货号:PC0020、G1062),Annexin V-FITC/碘化丙啶(propidium iodide,PI) 凋亡试剂盒购自武汉普诺赛生命科技有限公司,RPMI-1640 培养基和胰蛋白酶购自美国 GIBCO BRL 公司(货号:C11875500、25200056),胎牛血清购自以色列 Biological Industries 公司(货号:04-001-1ACS),神经钙黏蛋白(neural cadherin,n-cadherin)、Vimentin、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2-associated X protein,Bax)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 蛋白(B-cell lymphoma/leukemia-2 protein,Bcl-2)、TAZ、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)、GAPDH 及兔源、鼠源二抗购自武汉 Proteintech 公司(货号:22018-1-AP、60330-1-IG、50599-2-IG、12789-1-AP、23306-1-AP、23306-1-AP、10205-2-AP、SA00001-2 和 SA00001-1),pYAP1(Ser127)、LATS1/2 购自杭州华安公司(货号:ET1611-69、ER65865)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 细胞生长于完全培养基中,完全培养基为含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基,并添加 1% 抗生素(100 U/mL 霉素和 100 g/mL 链霉素)和 L-谷氨酰胺,置于 37 ℃、5% CO₂ 混合气体的恒温培养箱中培养。

1.2.2 CCK-8 实验 取对数生长期 AGS、HGC-27 细胞,离心收集细胞,用 1 mL 完全培养基重悬细胞,取 10 μL 细胞悬液计数,调整以 3 000 个/(100 μL·孔),接种于 96 孔板,并在 96 孔板边缘每孔各加 100 μL PBS 防止蒸发,于 37 ℃ 的 5% CO₂ 条件下培养,细胞附着后进行药物处理,设置空白组、100、200、400、800、1 000 μmol/L Alo 处理组,每孔加 100 μL 细胞悬液,每个重复 5 个复孔,24 h 后每孔加入 10 μL CCK-8 溶液,轻拍培养板侧面混匀试剂,温箱孵育 2 h,通过酶标仪测量样本在 450 nm 处的吸光度。同条件培养 48、72 h,计算存活率,并用 Graph-Pad Prism 作图。

1.2.3 划痕实验 设置空白组、100、200 μmol/L Alo 处理细胞 24 h,取对数生长期 Alo 处理的 HGC-27 和 AGS 细胞接种于 6 孔板中,调整每孔 8×10^6 个细胞,培养 12 h 使细胞贴壁。用 200 μL 黄枪头在 6 孔板内划“十”字划痕,用 PBS 润洗去除漂浮的细胞。在“十”字划痕上下左右处固定拍照,在 40 倍镜下分别于 0、24、48 h 在显微镜下拍照观察划痕愈合图片。加入含有 1% FBS 培养基继续培养 RPMI-1640 继续培养,使用 Image J 软件分析划痕面积

并计算划痕愈合率,以上实验重复 3 次。

1.2.4 克隆形成实验 设置空白组、100、200 μmol/L Alo 处理细胞 24 h,使细胞形成细胞悬液后,离心收集细胞,稀释细胞悬液,调整细胞浓度至 5×10^2 /孔。6 孔板每孔加 2 mL 细胞悬液。4~5 d 换 1 次液。14 d 后结束培养,4% 组织细胞固定液固定 15~30 min,0.1% 结晶紫染色 15~30 min,拍照,以上实验重复 3 次。

1.2.5 Transwell 迁移实验 设置空白组、100、200 μmol/L Alo 处理细胞 24 h,使细胞形成细胞悬液后,离心收集细胞,用 GIBCO-1640 基础培养基稀释成细胞悬液,调整上室所需的细胞悬液细胞浓度为 5×10^4 /孔,用无血清的基础培养基重悬加入 200 μL/孔。下室加入 700 μL 10% FBS 完全培养基。将 24 孔板放入培养箱培养。培养一定时间(AGS 细胞系 24 h/HGC-27 细胞系 36 h),用棉签去除上室细胞,将下室细胞用 4% 组织细胞固定液固定,0.1% 结晶紫染色。在 100 倍显微镜下观察、拍照、计数每个小室上、下、左、右、中 5 个视野中迁移至聚碳酸酯微孔膜下表面的细胞数,计算每个视野下的平均细胞数,进行组间比较,以上实验重复 3 次。

1.2.6 Transwell 侵袭实验 至少提前 2 h 铺基质胶,GIBCO-1640 基础培养基:基质胶量比例为 9:1,混匀后每孔垂直加入 100 μL 于装有小室的 24 孔板中,置恒温培养箱 2 h。设置空白组、100、200 μmol/L Alo 处理细胞 24 h,用 GIBCO-1640 基础培养基使细胞形成细胞悬液后,离心收集细胞,稀释细胞悬液,调整上室所需细胞悬液浓度为 5×10^4 /孔,用无血清的基础培养基重悬加入 200 μL/孔。下室加入 700 μL 20% FBS 完全培养基。将 24 孔板放入培养箱培养。培养一定时间(AGS 细胞系 36 h/HGC-27 细胞系 48 h),用棉签去除上室细胞,将下室细胞用 4% 组织细胞固定液固定、0.1% 结晶紫染色。在 100 倍显微镜下观察、拍照、计数每个小室上、下、左、右、中 5 个视野中迁移至聚碳酸酯微孔膜下表面的细胞数,计算每个视野下的平均细胞数,进行组间比较,以上实验重复 3 次。

1.2.7 流式细胞凋亡实验 设置空白组、100、200 μmol/L Alo 处理细胞 24 h,用不含 EDTA 的胰酶消化收集制备成单细胞悬液,1 000 r/min 离心 5 min,收集细胞,用预冷的 PBS 洗涤细胞;细胞沉淀加入 400 μL 1×Binding Buffer 轻轻重悬细胞,加入 5 μL Annexin V-FITC,轻轻混匀,室温避光孵育 15 min,加入 10 μL PI 染色液,轻轻混匀,冰浴避光放置 5

min, 在 30 min 内进行流式细胞术检测, 以上实验重复 3 次。

1.2.8 蛋白印迹实验 设置空白组、100、200 $\mu\text{mol/L}$ Alo 分别处理细胞 24 h 后, 用蛋白 RIPA 强效裂解液裂解细胞, 提取蛋白, 将蛋白电泳分离, 湿转移法将蛋白从凝胶转移到硝酸纤维素 (nitrocellulose, NC) 膜上; NC 膜浸入含有 5% 脱脂奶粉的封闭液, 室温下缓慢振荡 2 h; 清洗 NC 膜并与一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育过夜。次日, 用含吐温-20 的 Tris 缓冲盐溶液 (tris-buffered saline with Tween-20, TBST) 洗涤 NC 膜, 二抗室温孵育 1 h, TBST 清洗。ECL 底物化学发光、显影。Bio-Rad 凝胶成像分析系统拍照, Image J 图像分析软件读取蛋白条带灰度值, 以 GAPDH 为内参计算各目的蛋白的相对表达量。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 10.0 对实验数据进行分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$)

表示, 多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有实验至少重复进行 3 次, 以确保结果的可重复性和准确性。

2 结果

2.1 Alo 抑制胃癌细胞增殖 CCK-8 实验表明, 相较于未处理的对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$), 100、200、400、800、1 000 $\mu\text{mol/L}$ Alo 处理显著降低 GC 细胞 HGC-27 和 AGS 存活率, 抑制能力随着药物浓度增加而显著增强。AGS 的 IC_{50} 是 105.6 $\mu\text{mol/L}$, HGC-27 的 IC_{50} 是 104.4 $\mu\text{mol/L}$, 见图 1A、1B。本研究选择 100、200 $\mu\text{mol/L}$ Alo 进行后续实验。如图 1C - 1F 所示, 克隆形成实验中, 与对照组相比, 100 $\mu\text{mol/L}$ Alo 抑制 HGC-27 和 AGS 细胞克隆形成数 ($P < 0.05$, $n = 3$), 200 $\mu\text{mol/L}$ Alo 明显抑制 HGC-27 和 AGS 细胞增殖能力, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$,

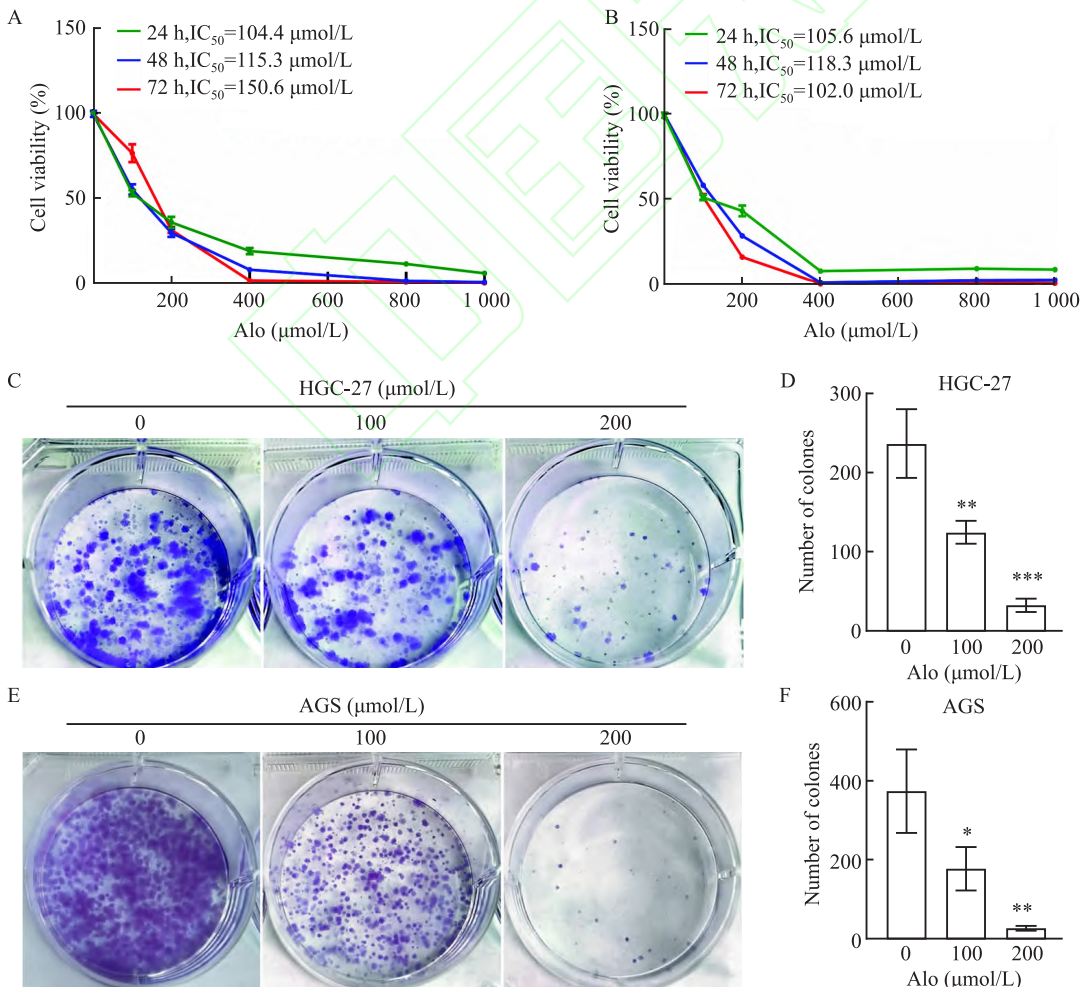


图 1 Alo 抑制胃癌细胞增殖能力

Fig. 1 Alo inhibited the proliferation of gastric cancer cells

A, B: HGC-27 and AGS cell viability detected by CCK-8 assay; C - F: Cell proliferation detected by colony formation assay and quantification chart; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ Alo group.

$n = 3$)。

2.2 Alo 促进胃癌细胞凋亡 随后检测了 Alo 对 GC 细胞凋亡的影响。如图 2A – 2D 所示,流式细胞术结果表明,与对照组相比,经 200 $\mu\text{mol/L}$ Alo 处理 24 h 后,GC 细胞 HGC-27 和 AGS 的总凋亡率显著增加($P < 0.01$, $n = 3$);在 AGS 中,100 $\mu\text{mol/L}$ 处理后凋亡率上升,差异有统计学意义($P < 0.05$, $n = 3$),但在 HGC-27 中,100 $\mu\text{mol/L}$ 处理差异无统计学意义($P > 0.05$, $n = 3$)。

2.3 Alo 抑制胃癌细胞迁移能力 为了验证 Alo 对胃癌细胞迁移的影响,如图 3A – 3D 所示,在划痕试验中,与对照组相比,100、200 $\mu\text{mol/L}$ Alo 处理细胞后抑制 HGC-27 和 AGS 细胞的迁移能力($P < 0.05$, $n = 3$)。Transwell 迁移实验同样表明,与对照组相比,Alo 明显抑制 HGC-27 和 AGS 细胞的迁移能力($P < 0.01$, $n = 3$),见图 3E – 3G。

2.4 Alo 抑制胃癌细胞的侵袭能力 为了进一步验证 Alo 对 GC 细胞侵袭能力是否有影响,用 Transwell 侵袭实验进行检测。如图 4A – 4C 所示,与对照组相比,100、200 $\mu\text{mol/L}$ Alo 抑制 HGC-27 和 AGS 细胞的侵袭能力($P < 0.01$, $n = 3$)。并且,随着 Alo 浓度升高,HGC-27 和 AGS 细胞的侵袭能力逐渐减低,差异有统计学意义($P < 0.01$, $n = 3$)。

2.5 Alo 对胃癌细胞增殖、凋亡、EMT 蛋白表达的影响 实验组细胞经 100 $\mu\text{mol/L}$ 和 200 $\mu\text{mol/L}$ Alo 处理 24 h 后,Western blot 检测各组凋亡相关蛋白的表达。结果如图 5A – 5D 所示,与对照组相比,100、200 $\mu\text{mol/L}$ Alo 处理细胞后 Bax 的表达均上调,Bcl-2 的表达则下调($P < 0.01$, $n = 3$)。同时检测了增殖相关蛋白 PCNA,显示 Alo 处理后 PCNA 蛋白表达降低($P < 0.01$, $n = 3$)。以上结果表明 Alo 处理后抑制 GC 细胞增殖,促进其凋亡。随后进一步检测了 EMT 相关蛋白 N-cadherin、Vimentin 的表达,与对照组相比,其在 100、200 $\mu\text{mol/L}$ Alo 处理细胞后蛋白表达均明显减低($P < 0.01$, $n = 3$)。表明 Alo 促进 GC 细胞凋亡,抑制其增殖、迁移和侵袭,与细胞表型结果一致。

2.6 Alo 对胃癌 HGC-27 和 AGS 细胞 Hippo 通路的影响 以上实验表明, Alo 可以有效抑制 GC 的恶性进程,因此,进一步探讨其潜在的机制。如图 6A – 6D 所示,Western blot 结果显示,与对照组相比,100、200 $\mu\text{mol/L}$ Alo 处理细胞后 TAZ 蛋白水平显著降低,磷酸化 Yes 相关蛋白(phosphorylated yes-associated protein, p-YAP)和 LATS1/2 水平显著增高($P < 0.01$, $n = 3$),提示 Alo 可以通过调节 Hippo 通路的活性抑制胃癌进程。

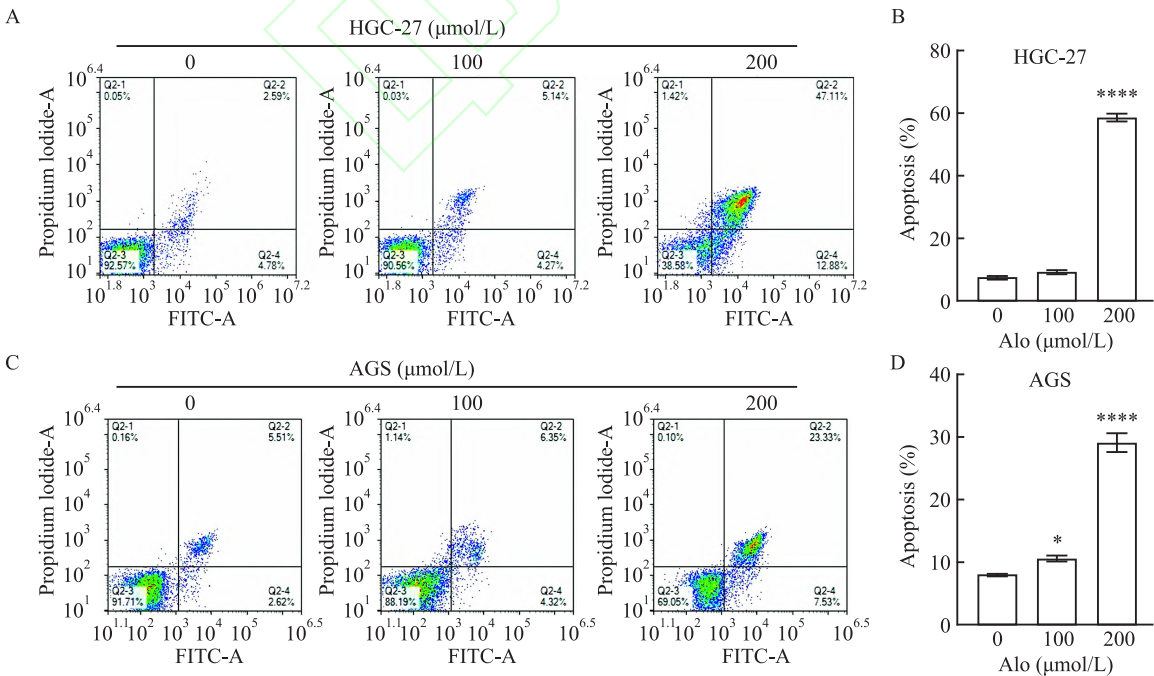


图 2 Alo 促进胃癌细胞凋亡
Fig. 2 Alo promoted the apoptosis of gastric cancer cells

A – D: Apoptosis detected by flow cytometry apoptosis assay and quantification chart; * $P < 0.05$, **** $P < 0.0001$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ Alo group.

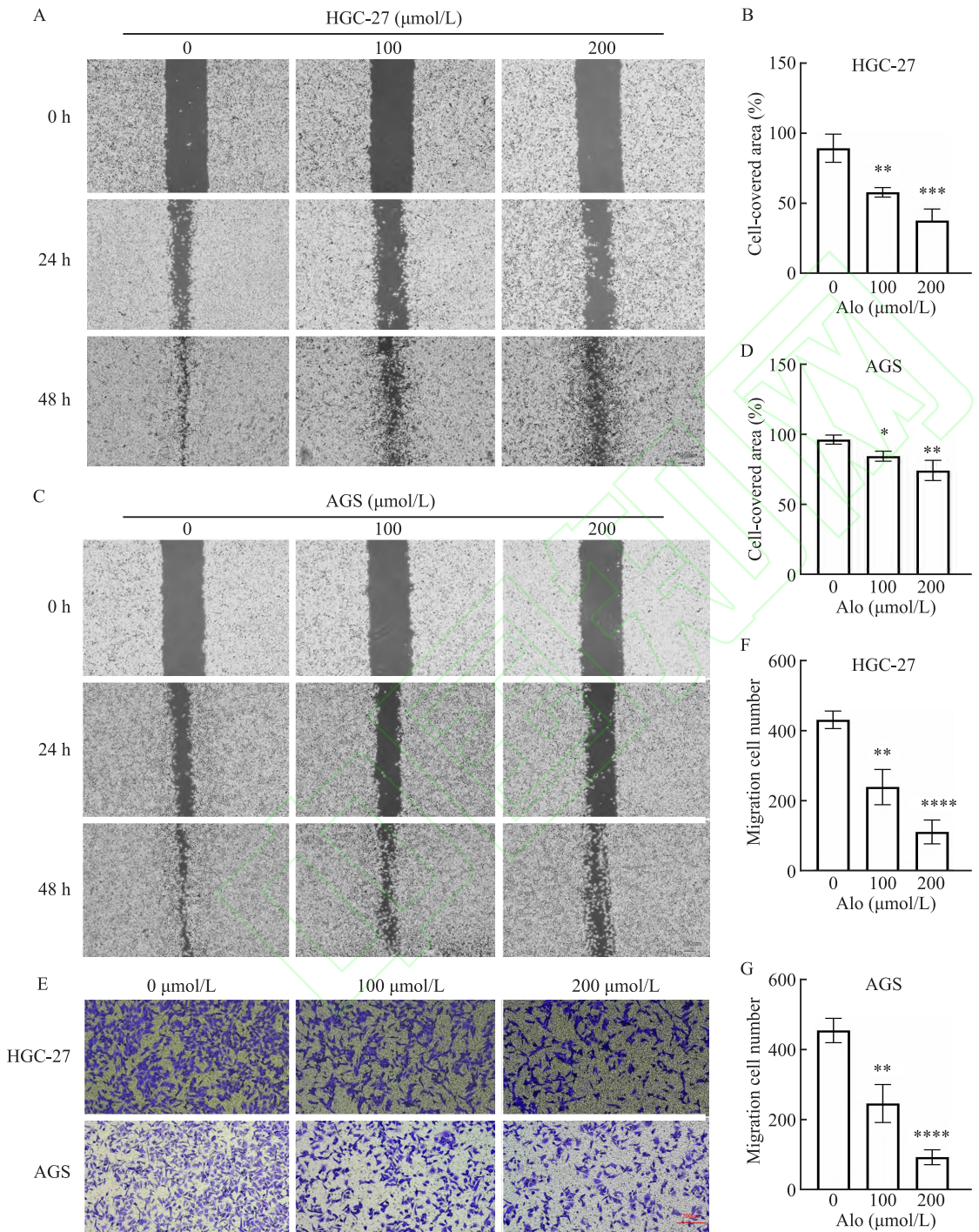


图3 Alo抑制胃癌细胞迁移能力

Fig. 3 Alo inhibited the migration ability of gastric cancer cells

A – D; Cell migration detected by scratch assay and quantification chart $\times 40$; E – G; Cell migration detected by Transwell migration assay and quantification chart $\times 100$; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs 0 μmol/L Alo group.

3 讨论

GC 是常见的消化道肿瘤,发病率和病死率在中国癌症中排名第三^[6]。目前 GC 的治疗仍然以手术治疗和放化疗为主,分子靶向和免疫治疗也在一定

程度上提高了 GC 患者的生存率和预后率,5-氟尿嘧啶、阿司匹林和其他非甾体抗炎药以及其他汀类药物可能会降低 GC 发病率^[7]。但患者一般确诊时都在中晚期,且预后较差。同时 GC 患者的耐药性和化疗药物存在毒副作用也是一个主要问题,从植物

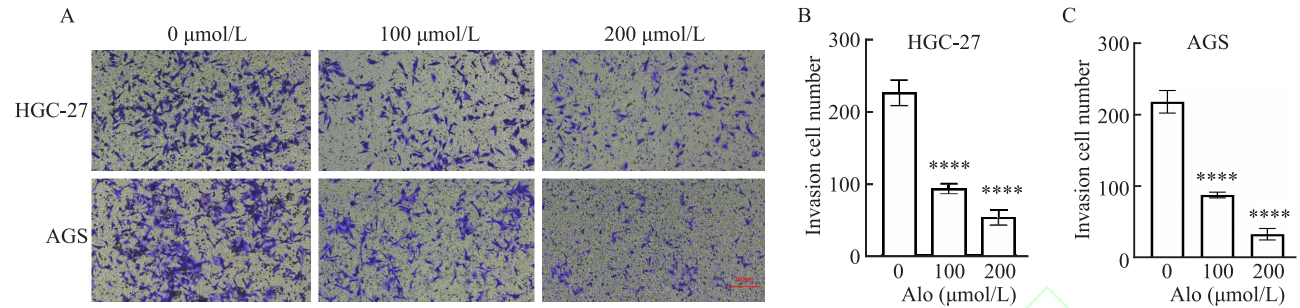


图 4 Alo 抑制胃癌细胞的侵袭能力

Fig. 4 Alo inhibited the invasion ability of gastric cancer cells

A – C; Cell invasion detected by Transwell invasion assay and quantification chart $\times 100$; **** $P < 0.0001$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ Alo group.

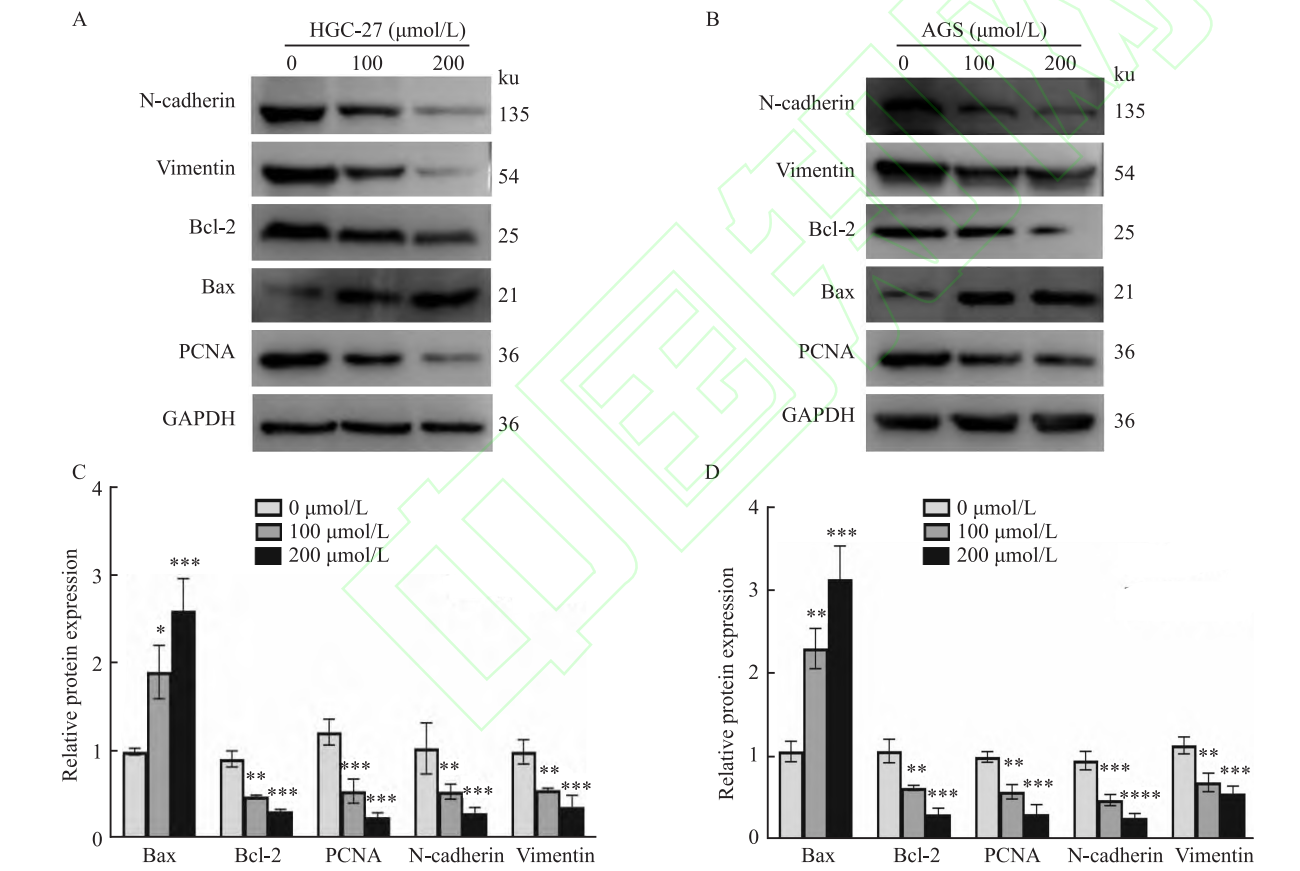


图 5 Alo 对胃癌细胞增殖、凋亡、EMT 蛋白表达的影响

Fig. 5 The effects of Alo on the proliferation, apoptosis of gastric cancer cells and the expression of EMT protein in gastric cancer cells

A – D; Proliferation, apoptosis, migration proteins detected by Western blot assay and quantification chart; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ Alo group.

中提取的天然化合物治疗 GC 是个不错的选择。天然化合物具有多样性、安全性、可用性、毒副作用小, 可以成为比传统合成药物价格更为合理的替代品^[8]。

Alo 是作为苦参中重要的喹诺里西啉生物碱活性成分, 其具有抗感染、抗病毒、抗肿瘤作用^[9]。研究表明, Alo 在许多癌细胞中发挥显著的抗肿瘤作用, 如多发性骨髓瘤、乳腺癌、宫颈癌、膀胱癌及结直肠癌等, 在癌症中具有重要的治疗意义, 有望为癌症

治疗提供选择^[10]。据文献^[11]报道, Alo 的抗肿瘤作用通过抑制 PI3K/AKT 和 RAS/ERK 等信号通路, 促进凋亡, 抑制增殖; 也可以通过直接杀伤以及抑制肿瘤的恶性进程来发挥其抗肿瘤作用。然而, Alo 对 GC 的作用及作用机制尚不明确, 因此, 本研究探讨 Alo 对 GC 细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响及其机制, 为 GC 的治疗提供新的策略。实验显示, Alo 可以明显抑制 GC 细胞增殖、迁移和侵袭, 促进 GC 细胞凋亡。Western blot 实验提示 Alo 显著降低

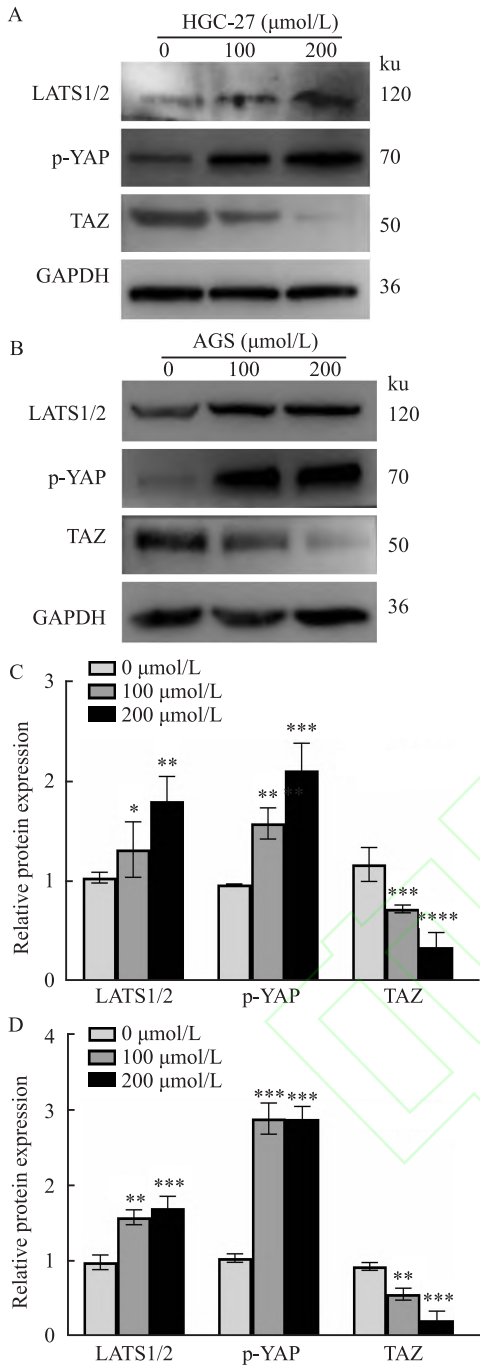


图6 Alo对胃癌细胞Hippo通路蛋白表达的影响

Fig. 6 The effects of Alo on protein expression in Hippo pathway in gastric cancer cells

A - D: p-YAP, LATS1/2 and TAZ proteins detected by Western blot assay and their quantification charts; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ Alo group.

增殖相关蛋白PCNA、抗凋亡蛋白Bcl-2、EMT相关蛋白N-cadherin、Vimentin蛋白的表达,增加促凋亡蛋白Bax蛋白的表达,以上结果提示,Alo在体外可以抑制GC进程,但其在体内的作用还需进一步探究。

Hippo信号转导的激活受磷酸化级联反应的调控,Mammalian sterile 20-like kinase 1和2(MST1/2)可以磷酸化LATS1/2激酶,磷酸化的LATS1/2促进YAP/TAZ蛋白的磷酸化,导致其在细胞质中滞留并降解从而发挥功能^[12]。Hippo通路在许多肿瘤的调节中起着至关重要的作用,而YAP/TAZ作为Hippo通路中的关键效应分子,可以与下游TEAD结合调控基因表达,并且YAP/TAZ的转录水平在多种癌症中失调,与肿瘤进展密切相关^[13-14]。研究^[15-16]表明,Hippo通路的失调与GC的发生发展及转移同样密切相关,靶向YAP/TAZ可以用于治疗GC,比如加入Hippo激酶激活剂或者YAP/TAZ抑制剂可以为治疗GC提供策略。但Alo通过Hippo通路调控GC进程及机制相对有限,在本研究中,实验显示,Alo可以增加LATS1/2的表达,促进YAP的磷酸化,降低TAZ蛋白表达,从而抑制Hippo通路。因此,Alo可能通过降低Hippo通路活性来抑制GC增殖和迁移。但具体机制,将通过找到Alo抑制Hippo通路影响的下游靶基因及其与GC进程的关系去进一步探讨。

综上所述,Alo可能通过Hippo通路抑制GC细胞的活力、增殖、迁移和侵袭,促进凋亡作用,靶向Hippo通路可能用于治疗GC。然而,应用该药物联合治疗GC需要更为深入的体外机制研究以及更为充分的体内实验证据。

参考文献

- [1] Yang W J, Zhao H P, Yu Y, et al. Updates on global epidemiology, risk and prognostic factors of gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(16): 2452 - 68. doi:10.3748/wjg.v29.i16.2452.
- [2] Hu Z X, Zhang J, Zhang T, et al. Aloperine-type alkaloids with antiviral and antifungal activities from the seeds of Sophora alopecuroides L[J]. J Agric Food Chem, 2024, 72(14): 8225 - 36. doi:10.1021/acs.jafc.4c00992.
- [3] Chen H, Wang S, Chen Q, et al. Aloperine ameliorates acetaminophen-induced acute liver injury through HMGB1/TLR4/NF- κ B and NLRP3/inflammasome pathway[J]. Mediat Inflamm, 2024, 2024(1): 3938136. doi:10.1155/2024/3938136.
- [4] Geng R, Shao H, Qian K, et al. Aloperine inhibits ASFV via regulating PRLR/JAK2 signaling pathway *in vitro* [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(16): 9083. doi:10.3390/ijms25169083.
- [5] Messina B, Lo Sardo F, Scalera S, et al. Hippo pathway dysregulation in gastric cancer: from Helicobacter pylori infection to tumor promotion and progression[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(1): 21. doi:10.1038/s41419-023-05568-8.
- [6] Mondal V, Higgins P J, Samarakoon R. Emerging role of hippo-

- YAP (yes-associated protein)/TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif) pathway dysregulation in renal cell carcinoma progression[J]. *Cancers*, 2024, 16(15): 2758. doi:10.3390/cancers16152758.
- [7] Yan C, Yang H, Su P, et al. OTUB1 suppresses Hippo signaling via modulating YAP protein in gastric cancer[J]. *Oncogene*, 2022, 41(48): 5186–98. doi:10.1038/s41388-022-02507-3.
- [8] Li T, He Y, Zhong Q, et al. Advances in treatment models of advanced gastric cancer[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2022, 21: 15330338221090353. doi:10.1177/15330338221090353.
- [9] Naeem A, Hu P, Yang M, et al. Natural products as anticancer agents: current status and future perspectives[J]. *Molecules*, 2022, 27(23): 8367. doi:10.3390/molecules27238367.
- [10] Tahir M, Ali S, Zhang W, et al. Aloperine: a potent modulator of crucial biological mechanisms in multiple diseases[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(4): 905. doi:10.3390/biomedicines10040905.
- [11] Okutan E, Güleç İ, Şengelen A, et al. Aloperine treatment attenuates acute spinal cord injury by reducing oxidative, inflammatory, and apoptotic responses via PI3K/AKT/NF-κB signaling in a rat contusion model[J]. *Neurosci Lett*, 2025, 854: 138203. doi:10.1016/j.neulet.2025.138203.
- [12] Cunningham R, Hansen C G. The Hippo pathway in cancer: YAP/TAZ and TEAD as therapeutic targets in cancer[J]. *Clin Sci*, 2022, 136(3): 197–222. doi:10.1042/CS20201474.
- [13] Dey A, Varelas X, Guan K L. Targeting the Hippo pathway in cancer, fibrosis, wound healing and regenerative medicine[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(7): 480–94. doi:10.1038/s41573-020-0070-z.
- [14] Lv L, Zhou X. Targeting Hippo signaling in cancer: novel perspectives and therapeutic potential[J]. *MedComm*, 2023, 4(5): e375. doi:10.1002/mco2.375.
- [15] Cao Z, An L, Han Y, et al. The Hippo signaling pathway in gastric cancer[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2023, 55(6): 893–903. doi:10.3724/abbs.2023038.
- [16] Seeneevassen L, Dubus P, Gronnier C, et al. Hippo in gastric cancer: from signalling to therapy[J]. *Cancers*, 2022, 14(9): 2282. doi:10.3390/cancers14092282.

Aloperine inhibits the malignant progression of gastric cancer cells by modulating the Hippo pathway

Tan Qiqi^{1,2}, Lan Bingxue^{1,2}, Zhang Junhua³, Huang Hai^{1,2}

(¹Center for Clinical Laboratories, The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004;

²School of Clinical Laboratory Science, Guizhou Medical University, Guiyang 550004; ³Dept of Blood

Transfusion, The Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013)

Abstract **Objective** To investigate the effect of aloperine (Alo) on the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells. **Methods** Human gastric cancer cell lines HGC-27 and AGS were treated with 0, 100, and 200 μmol/L Alo. CCK-8 was used to detect cell viability. Colony formation assay was used to detect cell proliferation. Flow cytometry was used to detect apoptosis. Scratch and Transwell migration assays were used to detect cell migration. Transwell invasion assay was used to detect cell invasion. Western blot was used to detect the expression of proteins related to proliferation, apoptosis, migration, invasion and Hippo pathway. **Results** Compared with the control group, the cell viability, number of colony formation, cell migration and invasion were significantly reduced after 100 and 200 μmol/L Alo treatment, and the apoptosis rate significantly increased ($P < 0.05$). Additionally, the expressions of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), B-cell lymphoma/leukemia-2 protein (Bcl-2), neural cadherin (N-cadherin), Vimentin, and transcriptional co-activator with PDZ-binding motif (TAZ) were significantly reduced, whereas the expressions of Bcl-2-associated X protein (Bax), phosphorylated yes-associated protein (p-YAP), and large tumor suppressor 1/2 (LATS1/2) significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Alo inhibits the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells HGC-27 and AGS by regulating the Hippo signaling pathway.

Key words aloperine; gastric cancer; Hippo signaling pathway; HGC-27 cells; AGS cells

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 82060442); Scientific and Technological Project of Guizhou Province (No. qkhjc-ZK[2024]YB-238); Scientific and Technological Project of Guizhou Health Commission(No. gzwkj2024-313); Natural Science Foundation of Guizhou Province (No. 2023JJ30856)

Corresponding author Huang Hai, E-mail: huang-hai828@gmc.edu.cn