



安徽医科大学学报  
*Acta Universitatis Medicinalis Anhui*  
ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

## 《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目： 和厚朴酚通过调节 ATF4/CHOP/TRIB3 通路抑制胃癌细胞恶性进程  
作者： 代凯红, 文贤慧, 黄赞, 韦四喜, 黄海  
收稿日期： 2026-02-28  
网络首发日期： 2026-03-16  
引用格式： 代凯红, 文贤慧, 黄赞, 韦四喜, 黄海. 和厚朴酚通过调节 ATF4/CHOP/TRIB3 通路抑制胃癌细胞恶性进程[J/OL]. 安徽医科大学学报.  
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260314.1840.016>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## 和厚朴酚通过调节 ATF4/CHOP/TRIB3 通路抑制胃癌细胞恶性进程

代凯红<sup>1,2</sup>, 文贤慧<sup>1,2</sup>, 黄 贇<sup>1,2</sup>, 韦四喜<sup>1,2</sup>, 黄 海<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>贵州医科大学附属医院临床检验中心, 贵阳 550004; <sup>2</sup>贵州医科大学检验学院, 贵阳 550004)

**摘要 目的** 探讨和厚朴酚 (Honokiol) 对胃癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响及其机制研究。 **方法** 选取 0、15、25  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol 处理人胃癌细胞系 HGC-27 与 AGS。CCK-8 检测两株细胞的半抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ); CCK-8、克隆形成、划痕、Transwell 迁移及 Transwell 侵袭实验检测细胞存活率、增殖、迁移、侵袭能力; 流式细胞术检测细胞凋亡率; Western blot 检测增殖、凋亡、迁移、侵袭及内质网应激通路 ATF4-CHOP-TRIB3 相关蛋白。 **结果** 与对照组比较, 15、25  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol 处理后两株胃癌细胞的增殖、克隆形成、迁移和侵袭能力明显降低, 凋亡率明显升高 ( $P < 0.05$ ); 与对照组比较, 15、25  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol 处理后两株胃癌细胞的神经钙黏蛋白 (N-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin)、增殖细胞核抗原 (PCNA)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 蛋白 (Bcl-2) 表达下降, 上皮钙黏蛋白 (E-cadherin)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、转录激活因子 4 (ATF4)、内质网应激相关蛋白 (CHOP)、Tribbles 同源蛋白 3 (TRIB3) 表达上升 ( $P < 0.05$ )。 **结论** Honokiol 通过调节内质网应激信号通路 ATF4/CHOP/TRIB3 促进胃癌细胞 HGC-27、AGS 凋亡, 抑制其增殖、迁移和侵袭。

**关键词** 和厚朴酚; 胃癌; 内质网应激; ATF4/CHOP/TRIB3 信号通路; 凋亡; 靶向

**中图分类号** R 735.2

**文献标志码** A

### Honokiol inhibits the malignant progression of gastric cancer cells by regulating the ATF4/CHOP/TRIB3 pathway

Dai Kaihong<sup>1,2</sup>, Wen Xianhui<sup>1,2</sup>, Huang Yun<sup>1,2</sup>, Wei Sixi<sup>1,2</sup>, Huang Hai<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Center for Clinical Laboratories, The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004; <sup>2</sup>School of Clinical Laboratory Science, Guizhou Medical University, Guiyang 550004)

2026-02-28 接收

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 82560798); 贵州省卫生健康委科学技术基金项目 (编号: gzwjkj2020-1-242)

作者简介: 代凯红, 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

**Abstract** *Objective* To investigate the effect of honokiol on proliferation, apoptosis, migration, and invasion of gastric cancer cells and its underlying mechanistic. *Methods* Human gastric cancer cell lines HGC-27 and AGS were treated with Honokiol at concentrations of 0, 15, and 25  $\mu\text{mol/L}$ . CCK-8 assays were conducted to determine the half maximal inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) for both cell lines. Cell viability, proliferation, migration, and invasion capabilities were assessed using CCK-8, colony formation, wound healing, Transwell migration and Transwell invasion assays. Apoptosis rates were measured *via* flow cytometry. Western blot analysis examined proteins related to proliferation, apoptosis, migration, invasion, and the endoplasmic reticulum stress pathway ATF4-CHOP-TRIB3. *Results* Compared with the control group, treatment with 15 and 25  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol significantly reduced the proliferation, colony formation, migration, and invasion capabilities of the two gastric cancer cell lines, while significantly increasing the apoptosis rate ( $P < 0.05$ ). Additionally, compared to the control group, the protein expression levels of neural cadherin (N-cadherin), Vimentin, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), and B-cell lymphoma/leukemia-2 protein (Bcl-2) decreased in the two gastric cancer cell lines after treatment with 15 and 25  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol, while the protein expression levels of epithelial cadherin (E-cadherin), Bcl-2-associated X protein (Bax), activating transcription factor 4 (ATF4), endoplasmic reticulum stress-related protein (CHOP), and tribbles homolog 3 (TRIB3) increased ( $P < 0.05$ ). *Conclusion* Honokiol promotes apoptosis and inhibits proliferation, migration, and invasion of gastric cancer HGC-27 and AGS cells by regulating the ERS signaling pathway ATF4/CHOP/TRIB3.

**Key words** honokiol; gastric cancer; endoplasmic reticulum stress; ATF4/CHOP/TRIB3 signaling pathway; apoptosis; targeting

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (No. 82560798); Scientific and Technological Project of Guizhou Health Commission (No. gzwkj2020-1-242)

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

胃癌 (gastric cancer, GC) 是全球常见癌症和癌症相关死亡原因之一, 其发病隐匿、难治性强, 如不及时治疗, 预后往往不理想<sup>[1]</sup>。目前有手术治疗、化疗和放疗等治疗方法, 但胃癌的整体治疗效果仍然较差, 因此寻找毒性更低的新治疗策略是提高胃癌治疗效果的希望<sup>[2]</sup>。从天然产物中寻找高效低毒的防治药物已成为肿瘤学研究的热点之一。和厚朴酚 (Honokiol) 是一种从传统中药材厚朴树皮中提取的天然小分子多酚类化合物, 因低毒性、

多靶点作用的特点,在消化系统恶性肿瘤的防治研究中逐渐成为热点<sup>[3]</sup>。研究<sup>[4]</sup>表明 Honokiol 具有广泛的药理活性,包括抗炎、抗氧化、抗菌及抗肿瘤等作用,其通过调控多种信号通路,在胃癌的预防和治疗中展现出多方面的潜在价值。ATF4/CHOP/TRIB3 信号通路是内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)诱导细胞凋亡的途径之一,是细胞在营养缺乏、氧化应激等环境时启动的核心通路,在肿瘤进展中起关键作用<sup>[5]</sup>。有研究<sup>[6]</sup>报道 Honokiol 可激活 ERS 通路治疗肿瘤,然而其通过 ATF4/CHOP/TRIB3 信号通路调控 GC 进程及机制研究鲜有报道,该研究采用 GC 细胞系 HGC-27 与 AGS,探究 Honokiol 对 GC 细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭的影响及其机制,为 GC 的治疗提供崭新理论。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 细胞系

人 GC 细胞系 HGC-27 和 AGS 购自武汉普诺赛公司。

#### 1.1.2 主要材料和试剂

Honokiol (货号: HY-N0003, 美国 MCE 公司); RPMI-1640 培养基和胰蛋白酶(货号: C11875500、252000, 美国 GIBCO BRL 公司); 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(货号: XY-FBS-500, 上海 SAILYBIO 公司); PBS 缓冲液(货号: G4202, 武汉塞维尔公司); 二甲基亚砜、青链霉素混合液、4%组织细胞固定液、蛋白浓度测定(bicinchoninic acid assay, BCA)试剂、结晶紫染色液和 RIPA 裂解液(货号: D8371、P1400、P1110、PC0020、G1062、R0010, 北京索莱宝公司); CCK-8 试剂(货号: MA0218, 大连博格林公司), Matrigel Matrix 基质胶(货号: 356234, 美国 Corning 公司); Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒(货号: 40302ES, 上海翌圣公司); B 细胞淋巴瘤/白血病-2 蛋白(B-cell lymphoma/leukemia-2 protein, Bcl-2)(货号: BF9103, 武汉亲和生命公司); 上皮钙黏附蛋白(E-Cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、Tribbles 同源蛋白 3(tribbles pseudokinase 3, TRIB3)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)及兔、鼠源二抗(货号: 20874-1-AP、10366-1-AP、10205-2-AP、13300-1-AP、50599-2-IG、81115-1-RR、SA00001-2 和 SA00001-1, 武汉三鹰公司); 神经钙黏蛋白(N-cadherin)、转录激活因子 4(activating transcription factor 4, ATF4)(货号: WL01047、WL02330, 沈阳万类公司); 内质网应激相关蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)(货号: ET1703-05, 杭州华安公司)。

### 1.2 方法

### 1.2.1 细胞培养与分组

HGC-27 和 AGS 细胞培养于含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基, 并添加 1% 抗生素 (100 U/mL 青霉素和 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  链霉素), 置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的恒温培养箱中培养; 二甲基亚砜溶解 Honokiol 并用 RPMI-1640 培养基稀释成所需浓度, 使用培养基稀释至 15、25  $\mu\text{mol}/\text{L}$  浓度处理细胞。

### 1.2.2 CCK-8 实验

取对数生长期 AGS、HGC-27 细胞, 离心收集细胞, 稀释细胞悬液为 3 000 个/100  $\mu\text{L}$ , 96 孔板中每孔加 100  $\mu\text{L}$  细胞悬液, 5 个复孔, 边缘每孔各加 100  $\mu\text{L}$  PBS 防止蒸发, 于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养; 待细胞贴壁后加药处理, 设置空白组、10、20、30、40、50  $\mu\text{mol}/\text{L}$  Honokiol 处理组, 每孔加 10  $\mu\text{L}$  CCK-8 试剂, 温箱孵育 2 h, 酶标仪测量样本 0 h 时在 450 nm 处的吸光度 (absorbance,  $A$ )。同条件培养 24、48、72 h, 计算半抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration,  $\text{IC}_{50}$ )。后续实验同上步骤设置空白组、15、25  $\mu\text{mol}/\text{L}$  Honokiol 处理细胞后测量  $A$  值计算细胞存活率。

### 1.2.3 克隆形成实验

0、15、25  $\mu\text{mol}/\text{L}$  Honokiol 处理对数生长期细胞 48 h 后, 1 000 r/min 离心 5 min 收集细胞, 稀释细胞悬液为 1 000 个细胞/孔。6 孔板每孔加 2 mL 细胞悬液。4-5 d 换 1 次液。10~14 d 后培养完毕, 4% 组织细胞固定液固定 15 至 30 min, 0.1% 结晶紫染色 15 至 30 min 后漂洗拍照计算克隆数量。

### 1.2.4 划痕实验

0、15、25  $\mu\text{mol}/\text{L}$  Honokiol 处理对数生长期细胞 48 h 后, 接种于 6 孔板中,  $8 \times 10^6$  个/孔, 待细胞贴壁后用 200  $\mu\text{L}$  枪头在 6 孔板内划“十”字划痕, 用 PBS 润洗去除漂浮的细胞。分别于 0、24、48 h 在显微镜下拍照观察划痕愈合情况, 每时间段拍照后加入完全培养基继续培养细胞。

### 1.2.5 Transwell 迁移实验

0、15、25  $\mu\text{mol}/\text{L}$  Honokiol 处理对数生长期细胞 48 h 后, 1000 r/min 离心 5 min 收集细胞, 下室加入 600  $\mu\text{L}$  10% FBS 完全培养基, 将小室轻放入后置于显微镜下观察膜接触的液面有无气泡, 若有气泡需取出小室重放。用 RPMI-1640 培养基稀释细胞悬液, 上室  $5 \times 10^4$  个/孔, 200  $\mu\text{L}/\text{孔}$ 。37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养一定时间, 用 PBS 润洗小室 2 次, 上、下室分别加入 200、600  $\mu\text{L}$  4% 组织细胞固定液固定 20 min 后用 0.1% 结晶紫染色 30 min, 清洗小室, 用棉签轻擦上室室壁, 将上室残留细胞去除干净。在 200 倍显微镜视野下察视、截取图片, 统

计各小室四周平均 5 个视野中迁移至小室孔膜下表面的细胞数。计算各视野下的平均细胞数。

### 1.2.6 Transwell 侵袭实验

Matrigel Matrix 基质胶按照说明书比例配好，上室每孔加入 100  $\mu$ L 置恒温培养箱过夜。0、15、25  $\mu$ mol/L Honokiol 处理对数生长期细胞 48 h 后，用 RPMI-1640 培养基稀释细胞悬液，上室  $8 \times 10^4$  个/孔，200  $\mu$ L/孔。37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  培养一定时间，用 PBS 润洗小室 2 次，上、下室分别加入 200、600  $\mu$ L 4% 组织细胞固定液固定 20 min 后用 0.1% 结晶紫染色 30 min，清洗小室，用棉签轻擦上室室壁，将上室残留细胞去除干净。在 200 倍显微镜视野下察视、截取图片，统计各小室四周平均 5 个视野中迁移至小室孔膜下表面的细胞数。计算各视野下的平均细胞数。

### 1.2.7 流式细胞凋亡实验

0、15、25  $\mu$ mol/L Honokiol 处理对数生长期细胞 48 h 后，用不含 EDTA 的胰酶消化，制成单个细胞悬液，用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次，1 000 r/min、4  $^{\circ}$ C 离心 5 min 后收集细胞；吸弃 PBS 加入 100  $\mu$ L 1 $\times$ Binding Buffer 重悬细胞，加入 5  $\mu$ L Annexin V-FITC 与 10  $\mu$ L PI Staining Solution，混匀避光，室温反应 10~15 min；加入 500  $\mu$ L 1 $\times$ Binding Buffer，混匀后避光冰上放置，1 h 内用流式细胞仪检测。

### 1.2.8 Western blot 实验

0、15、25  $\mu$ mol/L Honokiol 处理对数生长期细胞 48 h 后，蛋白 RIPA 强效裂解液裂解细胞，采用 BCA 法对上清液中的蛋白浓度进行测定，提取蛋白，通过 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳（polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE）电泳分离蛋白，让蛋白从凝胶转至 0.22  $\mu$ m 聚偏二氟乙烯（polyvinylidene fluoride, PVDF）膜上；PVDF 膜浸入含有 5% 脱脂奶粉封闭液中室温封闭 2 h；用含吐温-20 的 1 $\times$ Tris 缓冲盐溶液（tris-buffered saline with Tween-20, TBST）清洗 PVDF 膜后与一抗 4  $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜 12~16 h，稀释比例  $\beta$ -actin（1: 10 000）、E-Cadherin（1: 2 000）、N-Cadherin（1: 1 000）、Bcl-2（1: 3 000）、Bax（1: 2 000）、PCNA（1: 10 000）、Vimentin（1: 30 000）、CHOP（1: 3 000）、TRIB3（1: 1 000）、ATF4（1: 1 000）；次日，用 1 $\times$ TBST 洗涤 PVDF 膜 3 次，10 min/次，二抗（1: 10 000）室温孵育 1 h，1 $\times$ TBST 清洗 3 次，10 min/次。使用 ECL 化学发光、显影。Bio-Rad 凝胶成像系统拍照，ImageJ 软件量化分析蛋白条带灰度值，以  $\beta$ -actin 为内参计算各目的蛋白的相对表达水平。

## 1.3 统计学处理

使用 GraphPad Prism 9.0 软件分析实验数据，采用  $\bar{x} \pm s$  表示计量数据，所有实验均重

复 3 次以确保结果的可重复性和准确性。多组间比较采用单因素方差分析 (one way ANOVA),  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Honokiol 对 GC 细胞存活率的影响

CCK-8 实验显示,与未处理的对照组(0  $\mu\text{mol/L}$ )相比,10、20、30、40、50  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol 均呈现一定的增殖抑制作用,且抑制效果随着药物浓度升高而增强。结果显示, Honokiol 对 HGC-27、AGS 细胞的  $\text{IC}_{50}$  分别为 20.24、24.84  $\mu\text{mol/L}$ 。因此,在后续实验中选择  $\text{IC}_{50}$  附近的 15 和 25  $\mu\text{mol/L}$  两个剂量进行处理。见图 1。

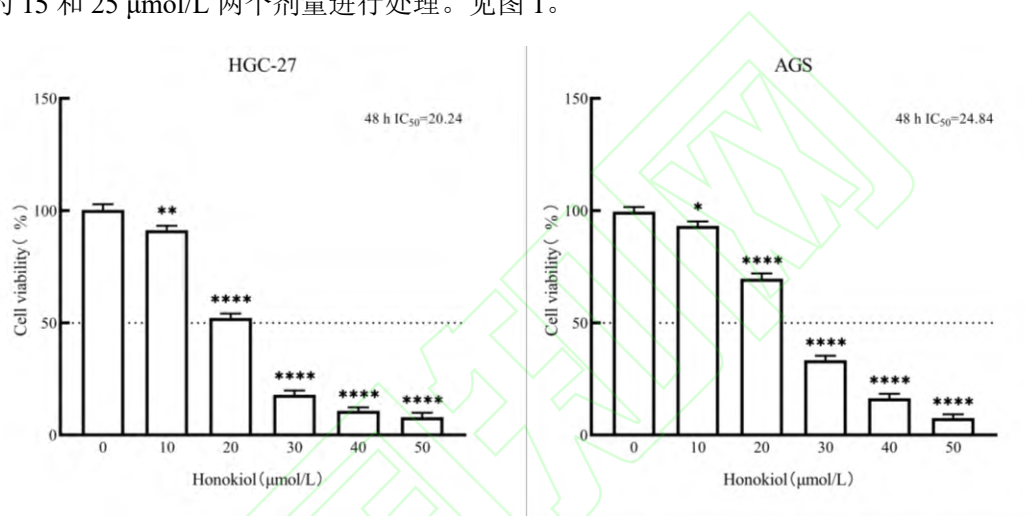


图 1 Honokiol 对 GC 细胞存活率的影响

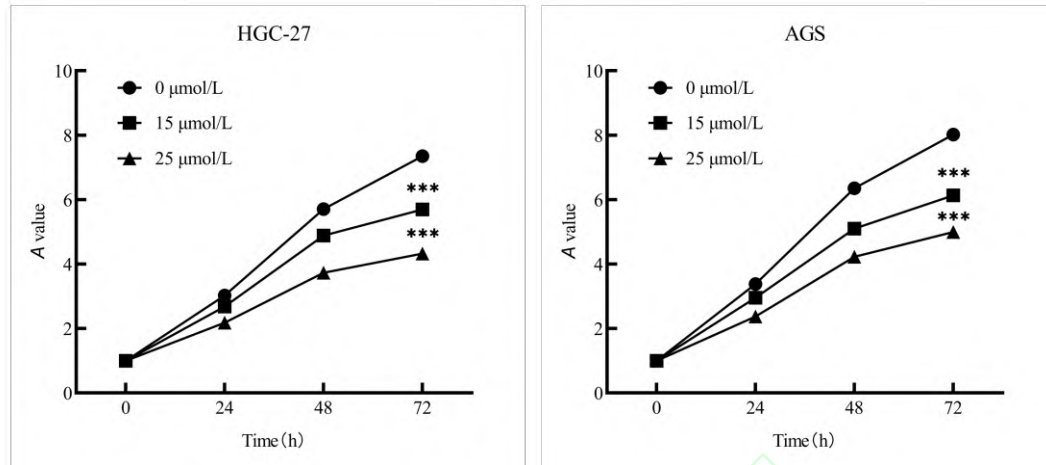
Fig.1 The effects of Honokiol on the viability of GC cells

注: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol group.

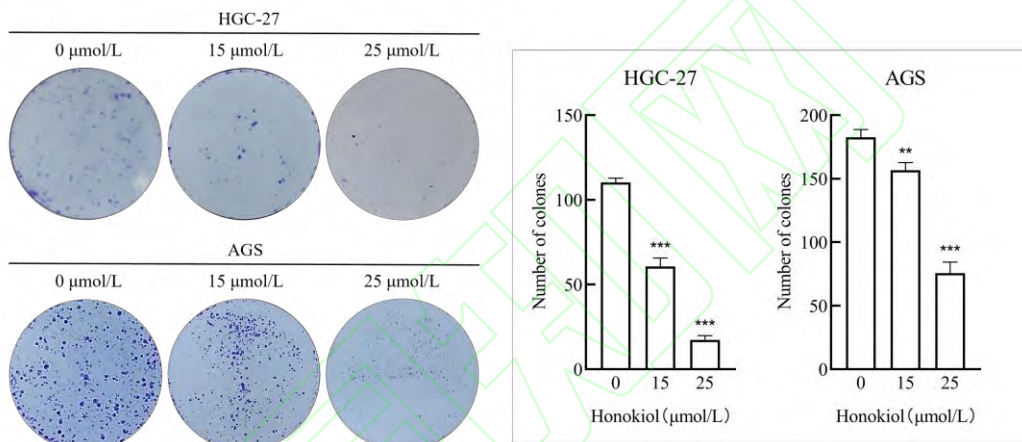
### 2.2 Honokiol 对 GC 细胞增殖、凋亡的影响

CCK-8 实验中,与对照组相比,15、25  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol 组 HGC-27、AGS 细胞存活率明显下降 ( $P < 0.001$ ),见图 2A。克隆形成实验中,15、25  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol 组 HGC-27、AGS 细胞克隆形成数明显下降 ( $P < 0.01$ ),见图 2B。流式细胞术中,15、25  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol 组 HGC-27、AGS 细胞凋亡率均有所上升 ( $P < 0.001$ ),见图 2C。Western blot 实验表明,15  $\mu\text{mol/L}$ 、25  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol 均可下调两株细胞中增殖相关蛋白 PCNA 的表达 ( $P < 0.01$ ),上调促凋亡蛋白 Bax 的表达 ( $P < 0.05$ ),下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达 ( $P < 0.05$ ),见图 2D。上述结果表明 Honokiol 能够促进 GC 细胞凋亡,抑制其增殖。

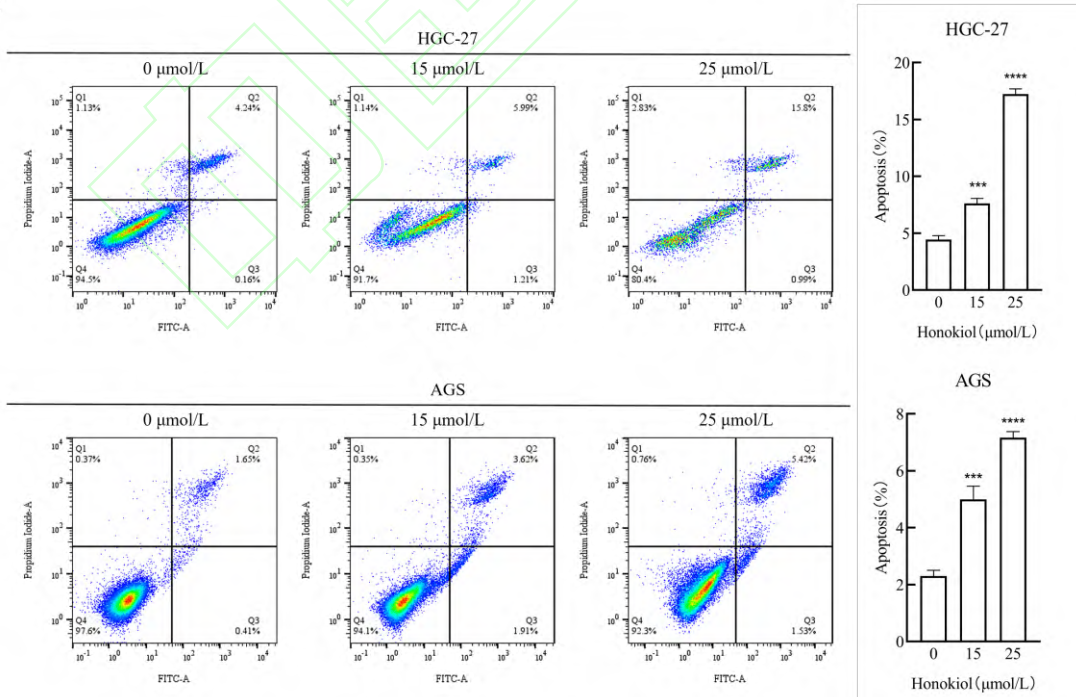
A



B



C



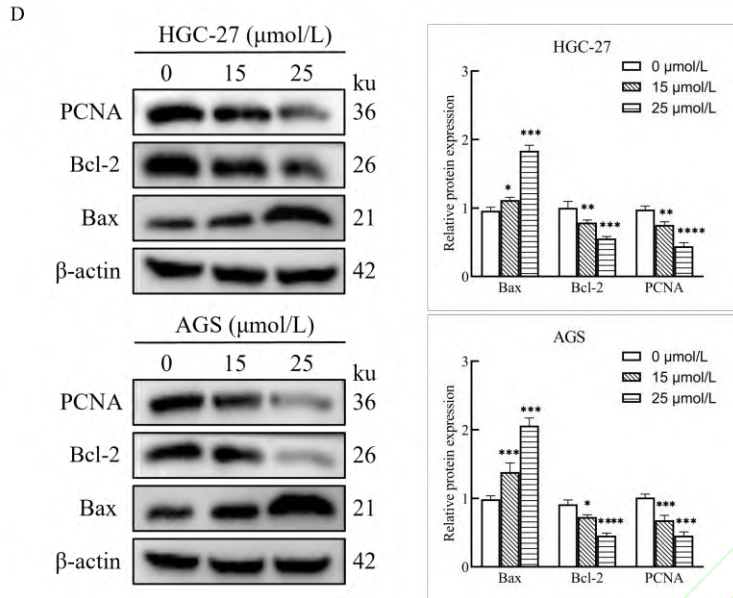


图 2 Honokiol 对 GC 细胞增殖、凋亡的影响

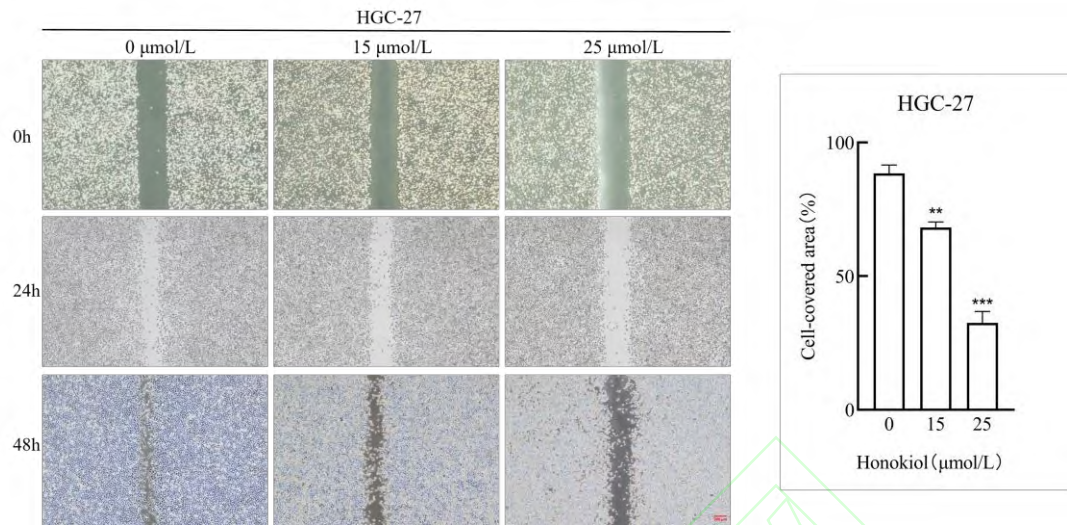
Fig.2 The effects of Honokiol on the proliferation and apoptosis of GC cells.

注：A: Viability of HGC-27 and AGS cells was detected by CCK-8 assay; B: Proliferation of HGC-27 and AGS cells was detected by colony formation assay and quantification charts showed the statistical results of it; C: Apoptosis of HGC-27 and AGS cells was detected by flow cytometry apoptosis assay and quantification charts showed the statistical results of it; D: Proliferation and apoptosis proteins of HGC-27 and AGS cells were detected by Western blot assay and quantification charts showed the statistical results of it; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs 0 μmol/L Honokiol group.

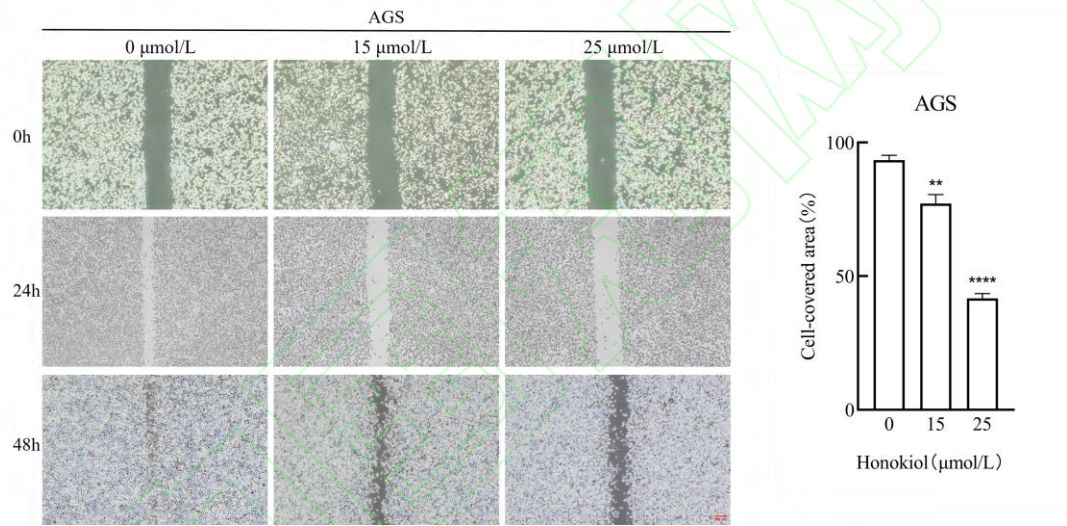
### 2.3 Honokiol 对 GC 细胞迁移、侵袭的影响

划痕实验中，与对照组相比，15、25 μmol/L Honokiol 组 HGC-27、AGS 细胞的伤口愈合面积明显减少，细胞迁移能力显著降低 ( $P < 0.01$ )，见图 3A、3B。Transwell 迁移实验同样表明，Honokiol 组细胞迁移穿膜的数量明显减少，迁移能力降低 ( $P < 0.01$ )，见图 3C。Transwell 侵袭实验中，15、25 μmol/L Honokiol 组 HGC-27、AGS 细胞穿过基质胶的数量明显减少，侵袭能力降低 ( $P < 0.01$ )，见图 3D。Western blot 结果显示，15、25 μmol/L Honokiol 组两株细胞上皮细胞标志蛋白 E-cadherin 表达均上调 ( $P < 0.001$ )，间质表型标志蛋白 N-cadherin、Vimentin 表达均下调 ( $P < 0.05$ )，见图 3E。上述结果表明 Honokiol 能够通过调控上皮-间质转化相关分子，来抑制 GC 细胞的迁移和侵袭能力。

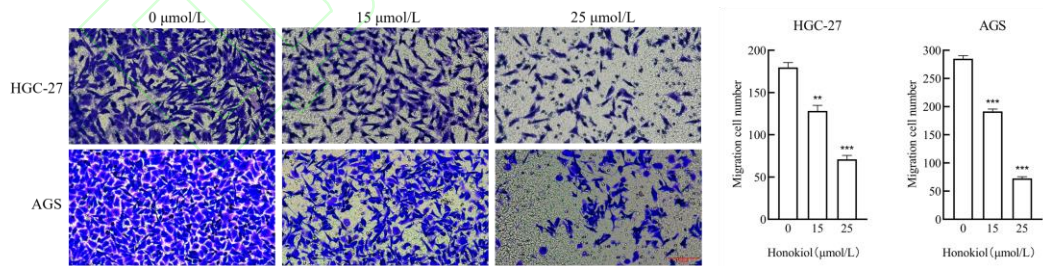
A



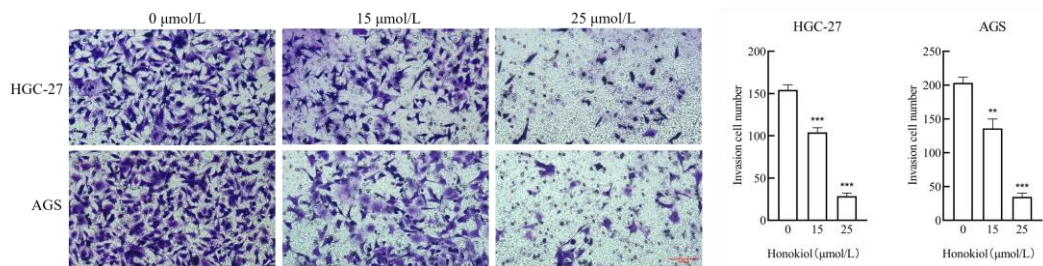
B



C



D



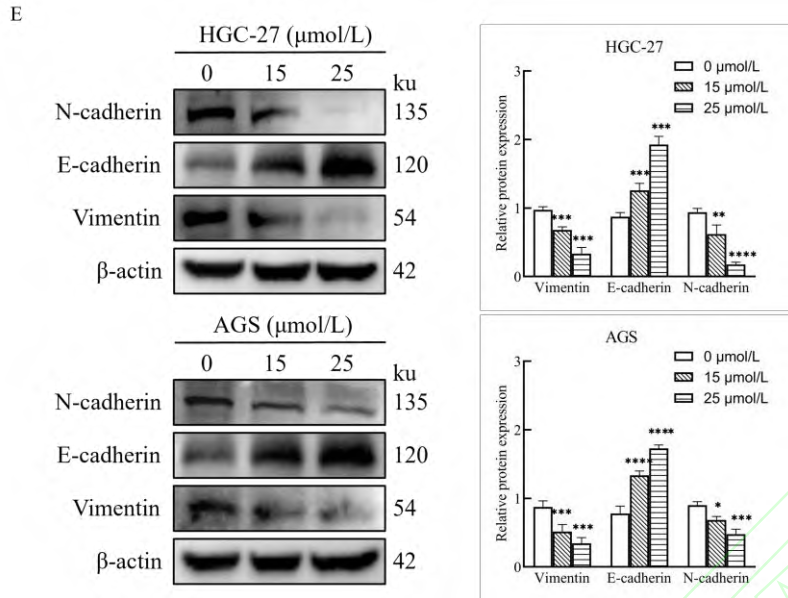


图3 Honokiol对GC细胞迁移、侵袭的影响

Fig.3 The effects of Honokiol on the migration and invasion of GC cells

注：A, B: Migration of HGC-27 and AGS cells was detected by scratch assay and quantification charts showed the statistical results of it  $\times 40$ ; C: Migration of HGC-27 and AGS cells was detected by Transwell migration assay and quantification charts showed the statistical results of it  $\times 200$ ; D: Invasion of HGC-27 and AGS cells was detected by Transwell invasion assay and quantification charts showed the statistical results of it  $\times 200$ ; E: Migration and invasion proteins of HGC-27 and AGS cells were detected by Western blot assay and quantification charts showed the statistical results of it; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol group.

#### 2.4 Honokiol对GC细胞ATF4/CHOP/TRIB3通路的影响

Western blot结果显示,与对照组相比,15、25  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol处理可使两株细胞的ERS通路相关蛋白ATF4、CHOP和TRIB3的表达水平均显著上调( $P < 0.05$ )。这一结果提示Honokiol可通过激活ERS中ATF4/CHOP/TRIB3这一信号通路来抑制胃癌细胞的恶性生物学行为。见图4。

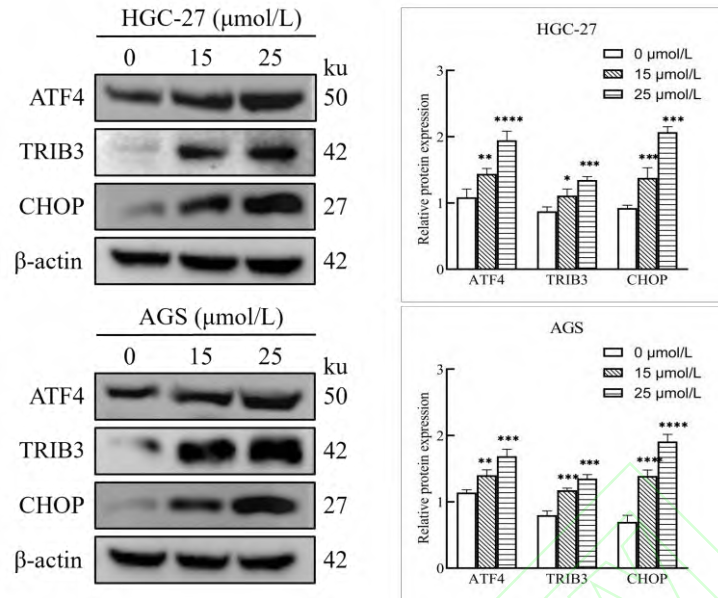


图 4 Honokiol 对胃癌细胞 ATF4/CHOP/TRIB3 通路的影响

Fig.4 The effects of Honokiol on the ATF4/CHOP/TRIB3 pathway in gastric cancer cells

注: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$  Honokiol group.

### 3 讨论

GC 是源自胃黏膜上皮的恶性肿瘤，是一种复杂且异质的疾病。尽管在过去的几十年里全球胃癌的发病率和病死率总体呈下降趋势，但 GC 在中国的所有癌症类型中发病率和病死率均排名第三<sup>[7]</sup>。目前，GC 的整体治疗效果不佳，中位生存期仍然较低，大多数患者被诊断为晚期，传统胃癌治疗的临床疗效有限。而随着对胃癌发病机制的理解不断加深，新治疗方案需求不断增加，药物治疗已成为主要手段<sup>[8]</sup>。传统放、化疗疗效有限、预后差、副作用多，因此，新型靶向药物和治疗策略是提高 GC 治疗效果的关键。基于中药具有低毒、多靶点、轻微副作用和良好治疗效果等优点，近年来，中药提取物或单体成分在 GC 中的潜在调控机制得到了广泛的验证，这些机制有效地调节了 GC 细胞生存所涉及的多个靶点和途径<sup>[9]</sup>。

Honokiol 是一种生物活性天然小分子化合物，具有多种药理特性，包括抗炎、抗血管生成、抗肿瘤等活性，并展现出广谱的抗微生物和抗真菌作用<sup>[10]</sup>。在多种肿瘤模型中，Honokiol 均展现出了明显的抑制肿瘤进展的效果，其分子机制涉及广泛，例如通过 ROS 介导的 p53/Cyclin D1/CDK6/CDK4/E2F1 通路、p53/PI3K/Akt/mTOR 通路以及 ERS 等信号途径来抑制肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭等恶性表型<sup>[11-12]</sup>。然而，目前关于 Honokiol 在胃癌中抗肿瘤作用及其潜在分子机制的报道非常有限。本研究通过体外实验证实了 Honokiol 对 GC 细胞恶性表型的显著抑制作用。结果表明，Honokiol 能够明显促进 GC 细胞系 HGC-27 和 AGS

的凋亡，抑制其增殖、迁移和侵袭能力，这与 Honokiol 在其他癌种中的抗肿瘤效应一致。说明 Honokiol 抑制了 GC 细胞的上皮-间质转化过程并诱导了细胞凋亡，从而在整体上遏制了 GC 细胞的恶性进展。以上研究为 Honokiol 作为潜在抗 GC 药物提供了实验依据，但其在体内的实际效果仍需进一步验证。

ERS 是细胞应对各种生理病理刺激（如缺氧、葡萄糖剥夺、肿瘤负荷等）的应激反应，可通过多条途径诱导细胞凋亡<sup>[13]</sup>。其中，经典的蛋白激酶 R 样内质网激酶（protein kinase R like endoplasmic reticulum kinase, PERK）通路是 ERS 作用机制之一：应激状态下，PERK 被激活，进而磷酸化真核翻译起始因子 2 $\alpha$  (eIF2 $\alpha$ )，导致蛋白质合成受抑并促使 ATF4 表达上调；ATF4 随后诱导下游的凋亡相关转录因子 CHOP 和效应分子 TRIB3 的表达，最终触发细胞凋亡程序<sup>[14-15]</sup>。研究<sup>[16]</sup>表明，ERS 信号通路的紊乱与 GC 的发生发展及转移密切相关，针对该通路的干预有望成为胃癌治疗新策略。然而，此前关于 Honokiol 通过诱导 ERS 来发挥抗胃癌活性的研究尚属鲜见。本研究结果提示，Honokiol 处理能够显著上调 GC 细胞中 ATF4、CHOP 和 TRIB3 的表达水平，提示 Honokiol 促进 GC 细胞凋亡并抑制其增殖、迁移和侵袭从而抑制 GC 细胞恶性进程，可能与 ATF4/CHOP/TRIB3 通路的激活相关。这一发现揭示了 Honokiol 抗 GC 作用的新机制，即通过调控肿瘤细胞内的应激反应通路实现对肿瘤细胞的控制。其中，CHOP 作为 ERS 诱导细胞凋亡的关键转录因子，能够抑制 Bcl-2 等抗凋亡蛋白的表达并激活 Bax 等促凋亡因子的活化，而 TRIB3 则是 CHOP 的下游靶基因，在放大 ERS 介导的细胞死亡信号中发挥重要作用。因此，Honokiol 上调 CHOP 和 TRIB3 的作用机制与该研究在细胞水平观察到的凋亡增加及增殖、迁移和侵袭降低的现象相吻合。但其更深的潜在分子机制，将通过找到 Honokiol 激活 ESR 信号通路影响的下游靶点及其与 GC 进程的关系进一步阐明。

综上所述，Honokiol 抑制 GC 细胞恶性进程，可能与 ATF4/CHOP/TRIB3 通路的激活相关。靶向该信号通路有望成为 GC 治疗的一个新思路。本研究为 Honokiol 应用于 GC 治疗提供了新的理论依据。后续将通过通路抑制剂或基因敲低/敲除技术进一步验证因果关系，深入验证该通路在 Honokiol 抗胃癌作用中的核心地位。并探索其与现有化疗药物联合应用的潜在增效作用，以期为 GC 患者提供新的治疗策略。

#### 参考文献

- [1] Lei Z N, Teng Q X, Tian Q, et al. Signaling pathways and therapeutic interventions in gastric cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 358. doi: 10.1038/s41392-022-01190-w.
- [2] Li X, Xu J, Xie J, et al. Research progress in targeted therapy and immunotherapy for gastric

- cancer[J]. *Chin Med J*, 2022, 135(11): 1299-313. doi:10.1097/CM9.0000000000002185.
- [3] Li X, Yuan Z, Wang Y, et al. Recent advances of honokiol: pharmacological activities, manmade derivatives and structure-activity relationship[J]. *Eur J Med Chem*, 2024, 272: 116471. doi:10.1016/j.ejmech.2024.116471.
- [4] Faysal M, Khan J, Zehravi M, et al. Neuropharmacological potential of honokiol and its derivatives from Chinese herb *Magnolia* species: understandings from therapeutic viewpoint[J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 154. doi:10.1186/s13020-023-00846-1.
- [5] Kitajima S, Sun W, Lee K L, et al. A KDM6 inhibitor potently induces *ATF4* and its target gene expression through HRI activation and by UTX inhibition[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 4538. doi:10.1038/s41598-021-83857-y.
- [6] Chen W, Wu J, Zhan S, et al. Honokiol inhibits endoplasmic reticulum stress-associated lipopolysaccharide-induced inflammation and apoptosis in bovine endometrial epithelial cells[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(6): 1476. doi:10.3892/etm.2021.10911.
- [7] 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.
- [8] Luo D, Liu Y, Lu Z, et al. Targeted therapy and immunotherapy for gastric cancer: rational strategies, novel advancements, challenges, and future perspectives[J]. *Mol Med*, 2025, 31(1): 52. doi:10.1186/s10020-025-01075-y.
- [9] Liu Y, Yu X, Shen H, et al. Mechanisms of traditional Chinese medicine in the treatment and prevention of gastric cancer[J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156003. doi:10.1016/j.phymed.2024.156003.
- [10] Rauf A, Olatunde A, Imran M, et al. Honokiol: a review of its pharmacological potential and therapeutic insights[J]. *Phytomedicine*, 2021, 90: 153647. doi:10.1016/j.phymed.2021.153647.
- [11] Li S, Chen J, Fan Y, et al. Liposomal Honokiol induces ROS-mediated apoptosis *via* regulation of ERK/p38-MAPK signaling and autophagic inhibition in human medulloblastoma[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 49. doi:10.1038/s41392-021-00869-w.
- [12] Yan W, Li K, Buhe A, et al. Retraction: salidroside inhibits the proliferation and migration of gastric carcinoma cells and tumor growth *via* the activation of ERS-dependent autophagy and apoptosis[J]. *RSC Adv*, 2024, 14(19): 13591. doi:10.1039/d4ra90046d.
- [13] Zhang W, Shi Y, Oyang L, et al. Endoplasmic reticulum stress-a key guardian in cancer[J]. *Cell*

Death Discov, 2024, 10(1): 343. doi:10.1038/s41420-024-02110-3.

- [14] 康 芬, 吴永远, 李晓兰. 早、晚发型重度子痫前期胎盘组织内质网应激及滋养细胞凋亡相关标志物的表达水平分析 [J]. 安徽医科大学学报, 2025, 60(1): 102-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.01.014.
- [14] Kang F, Wu Y Y, Li X L. Analysis of expression levels of endoplasmic reticulum stress and trophoblast apoptosis-related markers in placental tissues of early and late-onset severe preeclampsia[J]. Acta Univ Med Anhui, 2025, 60(1): 102-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.01.014.
- [15] van der Mijn J C, Chen Q, Laursen K B, et al. Transcriptional and metabolic remodeling in clear cell renal cell carcinoma caused by ATF4 activation and the integrated stress response (ISR)[J]. Mol Carcinog, 2022, 61(9): 851-64. doi:10.1002/mc.23437.
- [16] Shen J, Yang Z, Wu X, et al. Baicalein facilitates gastric cancer cell apoptosis by triggering endoplasmic reticulum stress *via* repression of the PI3K/AKT pathway[J]. Appl Biol Chem, 2023, 66(1): 10. doi:10.1186/s13765-022-00759-x.