基于 TrkA/STAT3 信号通路探讨白藜芦醇调控骨肉瘤细胞增殖、凋亡及迁移的机制*

郝洋[1,2]，章菲凡[2,3]，杨宁[2]，刘曼[2]，马言[2]，张勇勇[2]，贺佳子[2]，罗亚鸽[2]，李记天[1,2,3]

1. 河南中医药大学，河南 郑州 450046；2. 河南省洛阳正骨医院/河南省骨科医院，河南 郑州 450000；
3. 湖南中医药大学，湖南 长沙 410208

摘要：目的：基于受体酪氨酸激酶 A（receptor tropomyosin kinase A，TrkA）/信号转导和转录激活因子 3（signal transducer and activator of transcription 3，STAT3）信号通路探讨白藜芦醇调控骨肉瘤细胞增殖、凋亡及迁移的作用机制。方法：通过 TCMSP、TCMID、DrugBank 及 Swiss Target Prediction 数据库获取白藜芦醇靶点，GEO 数据库分析骨肉瘤的差异表达基因，并获取两者的交集靶点。利用 STRING 数据库构建蛋白质－蛋白质相互作用（protein－protein interaction，PPI）网络，根据拓扑学分析筛选白藜芦醇治疗骨肉瘤的关键靶点。借助 Metascape 数据库进行京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）富集分析。常规培养骨肉瘤细胞 KHOS 和 U2－OS，采用 CCK－8 实验、细胞划痕实验、平板克隆实验及细胞凋亡实验检测白藜芦醇对细胞增殖、迁移及凋亡的影响。采用 Western blot 实验检测白藜芦醇对骨肉瘤细胞 p－TrkA、p－STAT3、Caspase－3、Caspase－9、Bcl－2 蛋白表达的影响。结果：白藜芦醇靶点 153 个，骨肉瘤差异表达基因 14 975 个，两者共有 55 个交集靶点。关键靶点包括 STAT3、MYC、IL－6、TNF、CASP3、BCL－2 等。KEGG 通路包括 PI3K/AKT 信号通路、JAK/STAT 信号通路等。CCK－8 实验显示，白藜芦醇可抑制骨肉瘤细胞增殖。平板克隆实验显示，白藜芦醇可减少骨肉瘤细胞克隆数量。细胞划痕实验显示，白藜芦醇可抑制骨肉瘤细胞迁移。Western blot 显示，白藜芦醇可降低骨肉瘤细胞 Caspase－9、Bcl－2 蛋白表达水平，升高 Caspase－3 蛋白表达水平（$P<0.01$）。白藜芦醇可降低骨肉瘤细胞 p－TrkA、p－STAT3 蛋白表达水平（$P<0.01$）。结论：白藜芦醇可能通过调控 TrkA/STAT3 信号通路，抑制骨肉瘤细胞增殖与迁移，促进其凋亡。

关键词：白藜芦醇；骨肉瘤；TrkA/STAT3 信号通路；网络药理学；细胞增殖；细胞凋亡；细胞迁移
DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2025.11.381
中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999(2025)11－2426－11

Mechanism of Resveratrol Regulating Osteosarcoma Cell Proliferation, Apoptosis and Migration Based on TrkA/STAT3 Signaling Pathway

HAO Yang[1,2], ZHANG Feifan[2,3], YANG Ning[2], LIU Man[2], MA Yan[2], ZHANG Yongyong[2], HE Jiazi[2], LUO Yage[2], LI Jitian[1,2,3]

1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan 450046; 2. Luoyang Orthopedic Hospital of Henan Province/Henan Provincial Orthopedic Hospital, Zhengzhou, Henan 450000; 3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208

Abstract: Objective: To explore the mechanism by which resveratrol regulates osteosarcoma cell proliferation, apoptosis, and migration based on the receptor tropomyosin kinase A (TrkA)/Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signa-

* **基金项目**：国家骨科与运动康复临床医学研究中心创新基金项目（2021－NCRC－CXJJ－PY－13）；中华中医药学会青年人才托举工程项目（2021－QNRC2－A06）；河南省重点研发与推广专项项目（222102310428）；河南省医学科技攻关联合共建项目（LHGJ20200243）；河南省中医药科学研究专项课题项目（20－21ZY2234，2023ZY2136）；河南中医药大学研究生科研创新能力提升计划项目（2022KYCX076）

ling pathway. Methods: Resveratrol targets were obtained from the TCMSP, TCMID, DrugBank, and Swiss Target Prediction databases. Differentially expressed genes in osteosarcoma were analyzed using the GEO database, and the intersecting targets of the two were identified. A protein – protein interaction (PPI) network was constructed using the STRING database, and key targets of resveratrol in treating osteosarcoma were screened based on topological analysis. KEGG enrichment analysis was performed using the Metascape database. Osteosarcoma cell lines KHOS and U2 – OS were routinely cultured, and the effects of resveratrol on cell proliferation, migration, and apoptosis were detected using CCK – 8 assay, wound healing assay, colony formation assay, and apoptosis assay. Western blot experiments were used to detect the effects of resveratrol on the expression of p – TrkA, p – STAT3, Caspase – 3, Caspase – 9, and Bcl – 2 proteins in osteosarcoma cells. Results: There are 153 targets of resveratrol, 14 975 differentially expressed genes in osteosarcoma, and 55 overlapping targets between the two. Key targets include STAT3, MYC, IL – 6, TNF, CASP3, and BCL – 2, among others. KEGG pathways include the PI3K/AKT signaling pathway and the JAK/STAT signaling pathway. The CCK – 8 assay showed that resveratrol can inhibit the proliferation of osteosarcoma cells. Colony formation assays showed that resveratrol can reduce the number of osteosarcoma cell colonies. The wound healing assay demonstrated that resveratrol can inhibit the migration of osteosarcoma cells. Western blot analysis showed that resveratrol can decrease the protein expression levels of Caspase – 9 and Bcl – 2 in osteosarcoma cells and increase the protein expression level of Caspase – 3 ($P < 0.01$). Resveratrol can also reduce the protein expression levels of p – TrkA and p – STAT3 in osteosarcoma cells ($P < 0.01$). Conclusion: Resveratrol may inhibit the proliferation and migration of osteosarcoma cells and promote their apoptosis by regulating the TrkA/STAT3 signaling pathway.

Key words: resveratrol; osteosarcoma; TrkA/STAT3 signaling pathway; network pharmacology; cell proliferation

骨肉瘤(osteosarcoma, OS)是原发性骨恶性肿瘤,多发于 25 岁以下的青少年,恶性程度较高,极易出现复发和转移[1]。近年来,随着新辅助化疗的开展,患者的生存率和保肢率显著提高[2-5]。但临床观察发现,许多骨肉瘤患者在治疗过程中出现化疗耐药[6-7],严重影响治疗效果,且大约 35% 的患者面临截肢[8-11]。因此,深入探索骨肉瘤的新型治疗药物,对改善患者预后具有重要意义。

中医药在肿瘤治疗领域的独特优势已得到广泛认可[12-13]。药理学研究表明,中药单体治疗肿瘤等疾病呈现多靶点、多通路等特点[14-15],可促进肿瘤细胞凋亡,抑制其增殖[16-18],因此在肿瘤治疗领域具有广阔前景。中药单体不仅能够改善机体功能,提高免疫力,还能发挥增效减毒的作用。本研究旨在探讨中药单体白藜芦醇对骨肉瘤的调控机制,以期提高骨肉瘤的临床治疗效果,为中医药在骨肉瘤的临床应用提供参考。

白藜芦醇是一种天然多酚类单体化合物,具有抗炎、抗氧化、抗癌作用[19-25]。该化合物主要来源于虎杖[19-20]、桑白皮[21-22]、土茯苓[23-24]等活血化瘀、利湿化痰、清热解毒类中药,与骨肉瘤“痰瘀毒虚”的病理因素相契合。药理学研究表明,白藜芦醇通过干预核因子 – κB(nuclear factor kappa – B, NF – κB)、磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol – 3 – kinase/protein kinase B, PI3K/AKT)信号通路,抑制肿瘤细胞增殖和迁移[26-30],对结肠癌、乳腺癌、骨肿瘤等均有抑制效果[31-34]。此外,白藜芦醇通过靶向 Janus 激酶 2/信号转导和转录激活因子 3(Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3, JAK2/STAT3)信号通路,抑制骨肉瘤细胞 MG – 63 增殖,并调节细胞周期和凋亡相关蛋白表达,抑制荷瘤裸鼠骨肉瘤的生长[35]。但是,白藜芦醇对骨肉瘤细胞 KHOS、U2 – OS 增殖、凋亡及迁移的影响尚未明确。

网络药理学利用系统生物学的理论,从生物网络平衡的整体观出发,深入阐释药物与机体的相互作用。该方法可筛选药物的核心活性成分、预测作用靶点及信号通路,进而揭示药物与疾病发生发展的潜在作用机制[36]。这为中药多靶点、多通路的研究提供了新思路,且符合中医学的“整体观念”。因此,本研究首先采用网络药理学结合差异基因分析的方法,筛选白藜芦醇治疗骨肉瘤的核心成分、靶点及通路;其次,通过细胞实验观察白藜芦醇对骨肉瘤细胞系 KHOS、U2 – OS 增殖、迁移及凋亡的影响,旨在探讨白藜芦醇治疗骨肉瘤的潜在作用机制,为中医药治疗骨肉瘤的基础和临床研究提供依据。

1　材料

1.1　细胞　人骨肉瘤细胞系 KHOS 和 U2 – OS 来源于中国科学院细胞库(https://www.cellbank.org.cn/)。

1.2　药物与试剂　白藜芦醇(北京索莱宝科技有

限公司，纯度≥98.0%，批号：R8350）；BCA 蛋白定量试剂盒（北京索莱宝科技有限公司，货号：PC0020）；McCoy′s 5A 培养基（上海达特希尔生物科技有限公司，货号：2249322）；胎牛血清（美国 Gibco 公司，货号：10270－106）；受体酪氨酸激酶 A（receptor tropomyosin kinase A，TrkA）抗体、STAT3 抗体、山羊抗兔二抗、山羊抗鼠二抗（美国 Abcam 公司，货号：ab302524、ab68153、ab6721、ab6728）；p－TrkA（Tyr490）抗体、p－STAT3（Tyr705）抗体、B 细胞淋巴瘤－2（B－cell lymphoma－2，Bcl－2）抗体、Caspase－3、Caspase－9 抗体（美国 Cell Signaling Technology 公司，货号：4619T、9145T、4223T、9662S、9502T）；蛋白预染 marker（美国赛默飞公司，货号：26616）；快速封闭液（上海雅酶医药科技公司，货号：PS108）；Hoechst33342 试剂盒（上海优宁维生物科技股份有限公司，货号：abs47047620）。

1.3　仪器　细胞培养箱、电动移液器、低温超速离心机（Eppendorf，型号：CellXpertC170、Easypet S、5810R）；电泳仪［伯乐生命医学产品（上海）有限公司，型号：Powerpac 通用］；高压灭菌箱（华粤行政仪器有限公司，型号：HVA－85）；Milli Q 超纯水仪（MERCK，型号：IQ7005）；全波长酶标仪（BioTek，型号：Epoch）；显微镜（Olympus，型号：BX53）；超净工作台（上海苏净实业有限公司，型号：SW－CJ－1F）。

2　方法

2.1　网络药理学研究

2.1.1　白藜芦醇作用靶点获取　借助中药系统药理学数据库与分析平台（Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform，TCMSP，http://tcmspw.com/）[37]、TCMID 数据库（http://bidd.Nus.edu.sg/group/TCMsite/）[38] 及 DrugBank 数据库（https://www.drugbank.com/）获取白藜芦醇的作用靶点。另外，通过 PubChem 数据库（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）[39] 下载白藜芦醇的三维结构，导入 Swiss Target Prediction 数据库（http://www.swisstargetprediction.ch/）[40] 预测白藜芦醇靶点。最后，将 4 个数据库所得靶点汇总，去除重复靶点，即得白藜芦醇作用靶点。

2.1.2　骨肉瘤靶点获取　以“osteosarcoma”为关键词，在 GEO 数据库中检索，获得骨肉瘤患者和正常人群的测序数据集，通过 R 语言进行分析，以 $|\log_2 FC|>1$ 且 $P_{adj}<0.05$ 为条件筛选差异表达基因，并采用微生信网站（http://www.bioinformatics.com.cn/）绘制热图和火山图。最后，通过 Uniprot 数据库对靶点名称进行标准化处理。

2.1.3　白藜芦醇治疗骨肉瘤关键靶点筛选　将白藜芦醇与骨肉瘤的交集靶点导入 STRING 数据库（http:/string－db.org/），物种设置为“Homo sapiens”，置信度值（Medium Confidence）设定为≥0.7，构建蛋白质－蛋白质相互作用（protein－protein interaction，PPI）网络。将 PPI 网络图导入 Cytoscape 3.9.1 软件，并利用 Network Analyzer 插件进行拓扑学分析，从而筛选白藜芦醇治疗骨肉瘤的关键靶点。

2.1.4　基因本体（Gene Ontology，GO）和京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）富集分析　将白藜芦醇与骨肉瘤的交集靶点输入 Metascape 数据库（https://metascape.org/），进行 GO 和 KEGG 富集分析，以 $P<0.05$ 为条件筛选分析结果。其中，GO 分析包括细胞组分（cellular component，CC）、分子功能（molecular function，MF）及生物过程（biological process，BP）。

2.2　细胞实验研究

2.2.1　细胞培养和传代　将骨肉瘤细胞系 KHOS 和 U2－OS 接种于含有 10% 胎牛血清的 McCoy′s 5A 完全培养基，并在 37 ℃、含 5% CO_2 的恒温培养箱中培养，待细胞生长融合度达 80% 时，选取状态良好的细胞按照 1∶3 的比例进行传代，用于后续实验。

2.2.2　细胞毒性和细胞增殖实验　将骨肉瘤细胞 KHOS 和 U2－OS 接种于 96 孔板，每孔 3×10^3 个细胞，采用不同浓度白藜芦醇（0、3.125、6.25、12.5、25、50、100 mg·L^{-1}）处理 24 h、48 h、72 h、96 h 后，去除旧培养基，加入 CCK－8 工作液，37 ℃恒温箱孵育 30 min 后，使用酶标仪测定各孔光密度值，并通过 Graphpad Prism 软件计算白藜芦醇作用于 KHOS 细胞/U2－OS 细胞 24 h/48 h 的半数抑制浓度（half maximal inhibitory concentration，IC50）。

2.2.3　细胞划痕实验　将骨肉瘤细胞 KHOS 和 U2－OS 接种于 6 孔板，每孔 4×10^5 个细胞，当细胞生长融合度达到 100% 时，用 200 μL 枪头尖端垂直划

过细胞层，去除旧培养基，PBS 清洗细胞 3 次后，更换为含不同质量浓度白藜芦醇（0、12.5、25 mg·L^{-1}）的无血清培养基，处理细胞 12 h、24 h 后，显微镜拍摄划痕区域。

2.2.4　平板克隆实验　将骨肉瘤细胞 KHOS 和 U2－OS 接种于 6 孔板，每孔 400 个细胞，常规培养 24 h 后，加入含不同质量浓度白藜芦醇（0、6.25、12.5、25 mg·L^{-1}）的培养基，培养 10 d 后若不含药孔可明显观察到细胞克隆时，使用 PBS 清洗细胞，加入 4% 多聚甲醛固定 30 min，用 0.1% 结晶紫染色 10 min，清洗细胞后进行拍照和数据分析。

2.2.5　细胞凋亡实验　将骨肉瘤细胞 KHOS 和 U2－OS 接种于 6 孔板，每孔 2×10^5 个细胞，培养 24 h 后，加入含不同质量浓度白藜芦醇（0、12.5、25 mg·L^{-1}）的培养基培养 24 h，使用 4% 多聚甲醛固定细胞 30 min，PBS 清洗细胞，每孔加入 2 mg·L^{-1} Hoechst33342 染色液 1 mL，染色 30 min 后在荧光显微镜下观察和拍照。

2.2.6　Western blot 实验　采用不同质量浓度白藜芦醇（0、12.5、25 mg·L^{-1}）处理骨肉瘤细胞 KHOS 和 U2－OS，24 h 后收集细胞，加入 RIPA 裂解液，4 ℃、12 000 r·min^{-1}离心 10 min，取上清获得细胞总蛋白。通过 BCA 法测定蛋白浓度，10% SDS－PAGE 凝胶电泳（100 V 60 min），转膜（90 V 2 h）后封闭，一抗 4 ℃孵育过夜，洗涤后二抗室温孵育 1 h，洗涤后对蛋白条带进行显影，使用 Image J 软件分析蛋白条带的灰度值。

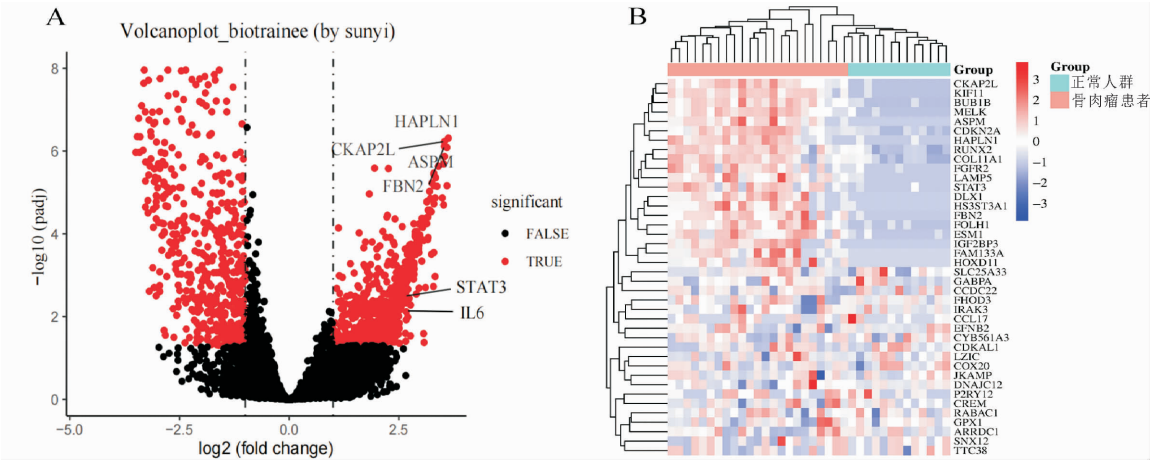
2.3　统计学方法　采用 SPSS 21.0 统计学软件分析数据，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。若数据符合正态分布，两组间比较采用 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析，满足方差齐性者组间两两比较采用 *LSD* 检验；若数据不符合正态分布或方差不齐时，采用非参数检验。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3　结果

3.1　网络药理学研究结果

3.1.1　白藜芦醇与骨肉瘤作用靶点　通过 TCMSP、TCMID、DrugBank 及 Swiss Target Prediction 数据库检索到白藜芦醇作用靶点 153 个。

测序数据集 GSE218035 包含 36 个样本，即 23 个骨肉瘤患者和 13 个正常人群样本，得到 14 975 个差异表达基因，其中 8 949 个基因上调，6 026 个基因下调，见图 1A。前 20 个上调基因和下调基因见图 1B。另外，骨肉瘤差异表达基因与白藜芦醇靶点取交集后，获得 55 个交集靶点。



注：A：火山图；B：热图（Top 20）。

图 1　骨肉瘤 GSE218035 差异表达基因火山图和热图

3.1.2　白藜芦醇治疗骨肉瘤关键靶点　将白藜芦醇与骨肉瘤交集靶点导入 STRING 数据库，得到 PPI 网络图，见图 2。颜色越深、圆圈越大代表该节点的 Degree 值越大，靶点的作用越重要。该网络中，Degree 中位数的 2 倍为 115，Betweenness 中位数为 327.269 36，Closeness 中位数为 89.2，以大于上述数值为条件筛选关键靶点，得到包括 STAT3、MYC、IL－6、TNF、CASP3、BCL－2 等 24 个关键靶点，见表 1。

3.1.3　GO 和 KEGG 富集分析　GO 富集分析得到 160 个 CC、334 个 MF 及 2 560 个 BP。其中，CC 主要涉及蛋白激酶、转录调控复合物、Bcl－2 蛋白家族复合物等；MF 主要涉及蛋白激酶活性、转录因

子和细胞受体结合等;BP 主要涉及对细胞程序性死亡的调控、对细胞凋亡信号通路的调控等,见图 3A。

KEGG 富集分析得到 209 条信号通路,主要包括癌症中的通路、PI3K/AKT 信号通路、AGE - RAGE 信号通路、JAK/STAT 信号通路等,见图 3B。

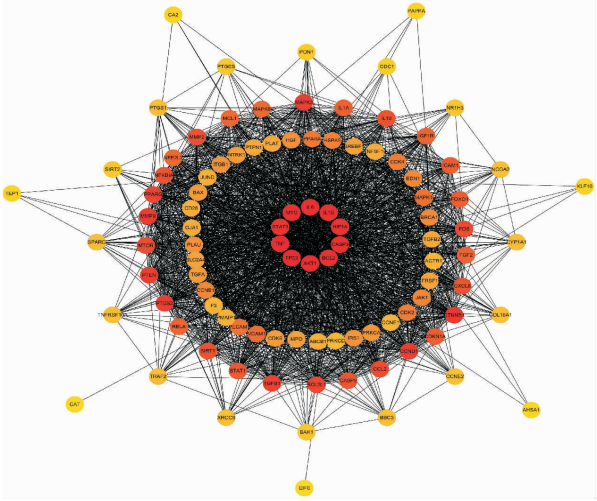


图 2　白藜芦醇与骨肉瘤交集靶点 PPI 网络图

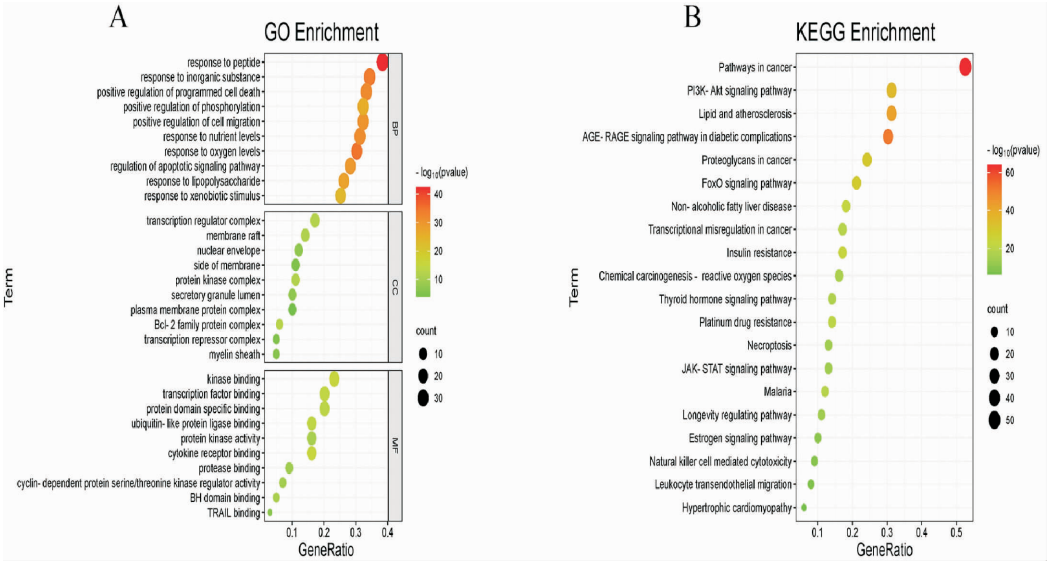
3.2　细胞实验结果

3.2.1　白藜芦醇可抑制骨肉瘤细胞增殖和迁移

白藜芦醇是中药虎杖、桑白皮的活性成分之一,其化学结构见图 4A。CCK - 8 检测显示,白藜芦醇可明显抑制骨肉瘤细胞 KHOS 和 U2 - OS 增殖,且具有浓度依赖性,见图 4B、4C。白藜芦醇作用于 U2 - OS、KHOS 细胞 24 h 的 IC50 为 32.06 mg · L^{-1}、28.86 mg · L^{-1},作用 48 h 的 IC50 为 20.15 mg · L^{-1}、15.57 mg · L^{-1}。平板克隆实验显示,随着白藜芦醇浓度升高,骨肉瘤细胞 U2 - OS 和 KHOS 的克隆数量、大小呈明显降低趋势,见图 4D。细胞划痕实验显示,白藜芦醇能够抑制骨肉瘤细胞 U2 - OS、KHOS 迁移,且具有浓度依赖性,见图 4E。

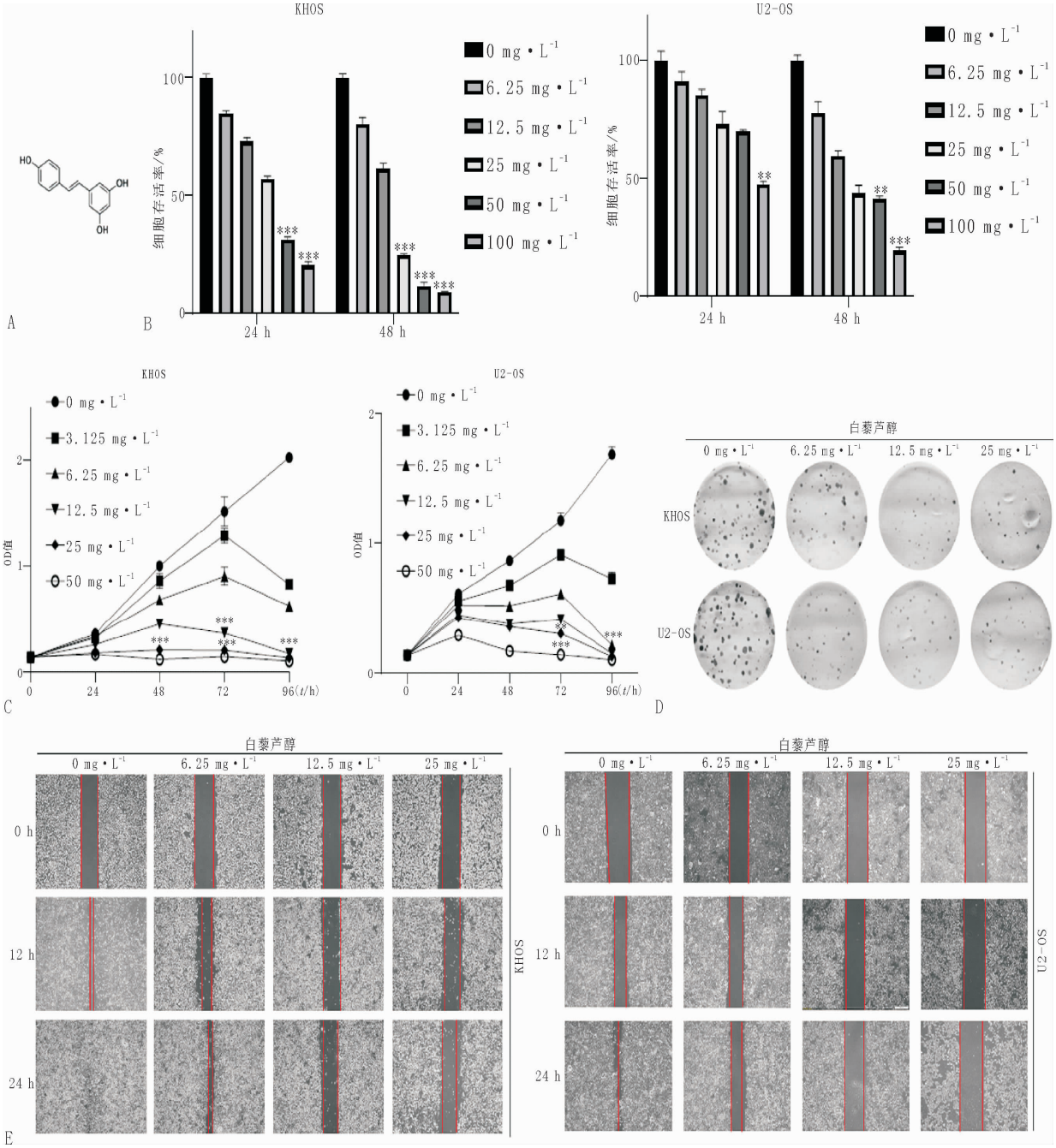
表 1　白藜芦醇治疗骨肉瘤的关键靶点信息

靶点	Betweenness	Closeness	Degree
STAT3	427.594 21	91.5	170
MYC	269.990 36	91.0	168
IL - 6	441.047 72	91.0	168
TNF	328.858 35	90.5	166
CASP3	274.848 88	88.0	156
BCL2	188.404 75	88.0	156
TP53	190.692 47	87.5	154
IL - 1B	175.839 61	87.5	154
HIF1A	351.721 32	87.0	152
AKT1	112.830 09	85.5	146
CTNNB1	122.789 63	85.0	144
MMP9	168.102 19	84.5	142
PTEN	85.671 17	83.0	136
PTGS2	126.761 96	82.8	136
MAPK3	82.941 88	83.0	136
CCND1	115.828 74	83.0	136
TGFB1	144.265 70	82.0	132
PPARG	129.879 99	81.5	130
BCL2L1	77.275 35	81.0	128
FOS	159.180 49	80.5	126
CCL2	427.594 21	91.5	120
MTOR	269.990 36	91.0	118
MMP2	441.047 72	91.0	118
NFKBIA	328.858 35	90.5	116



注:A:GO 分析;B:KEGG 分析。

图 3　GO 和 KEGG 富集分析气泡图



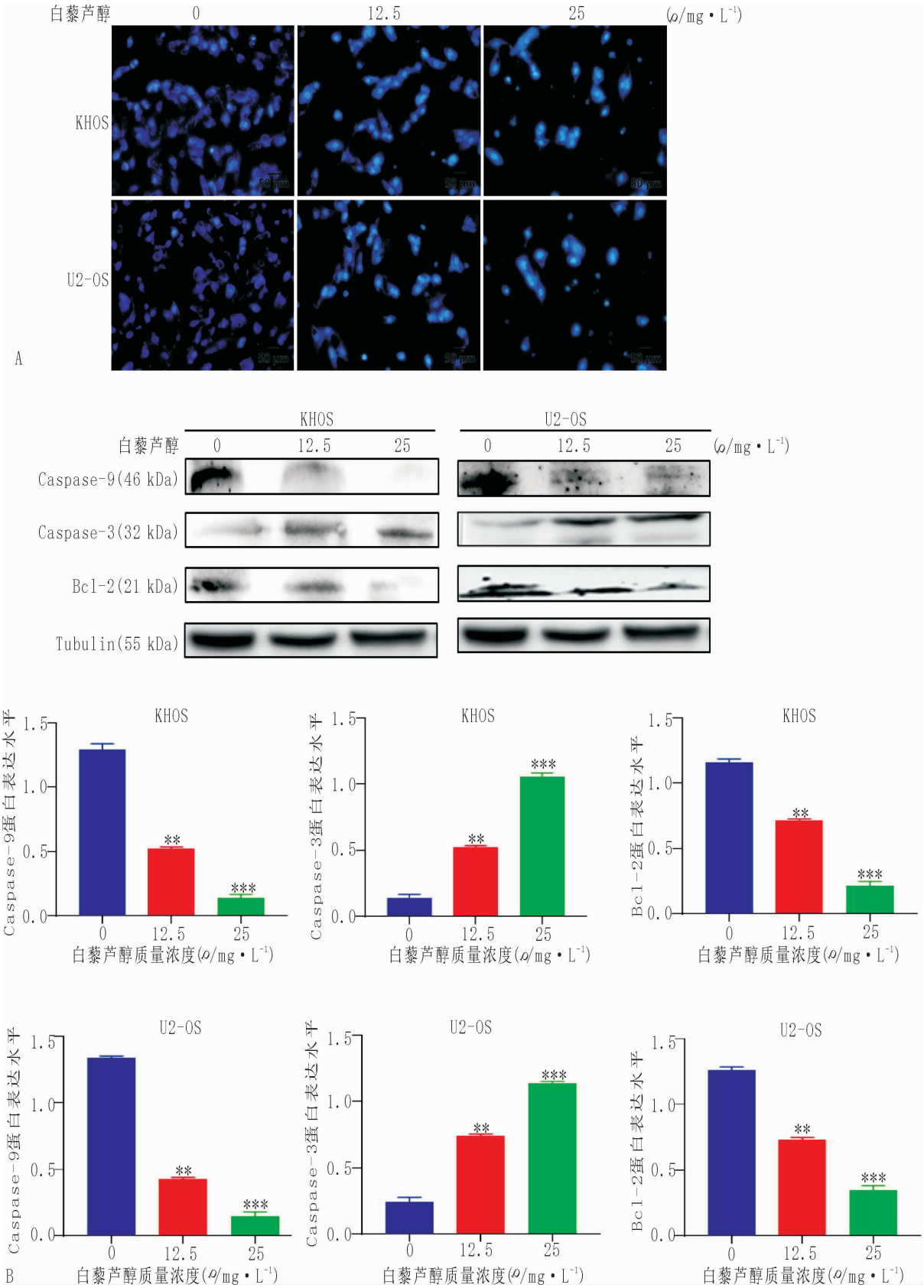
注：A：白藜芦醇的化学结构；B、C：白藜芦醇作用于骨肉瘤细胞的活性；D：白藜芦醇作用于骨肉瘤细胞的克隆形成情况；E：白藜芦醇作用于骨肉瘤细胞的迁移情况；与 0 mg·L^{-1}白藜芦醇组比较，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

图 4　白藜芦醇对骨肉瘤细胞 KHOS 和 U2－OS 增殖、迁移的影响

3.2.2　白藜芦醇可促进骨肉瘤细胞凋亡　免疫荧光显示，随着白藜芦醇浓度升高，骨肉瘤细胞核出现明显皱缩，呈固缩状，见图 5A。

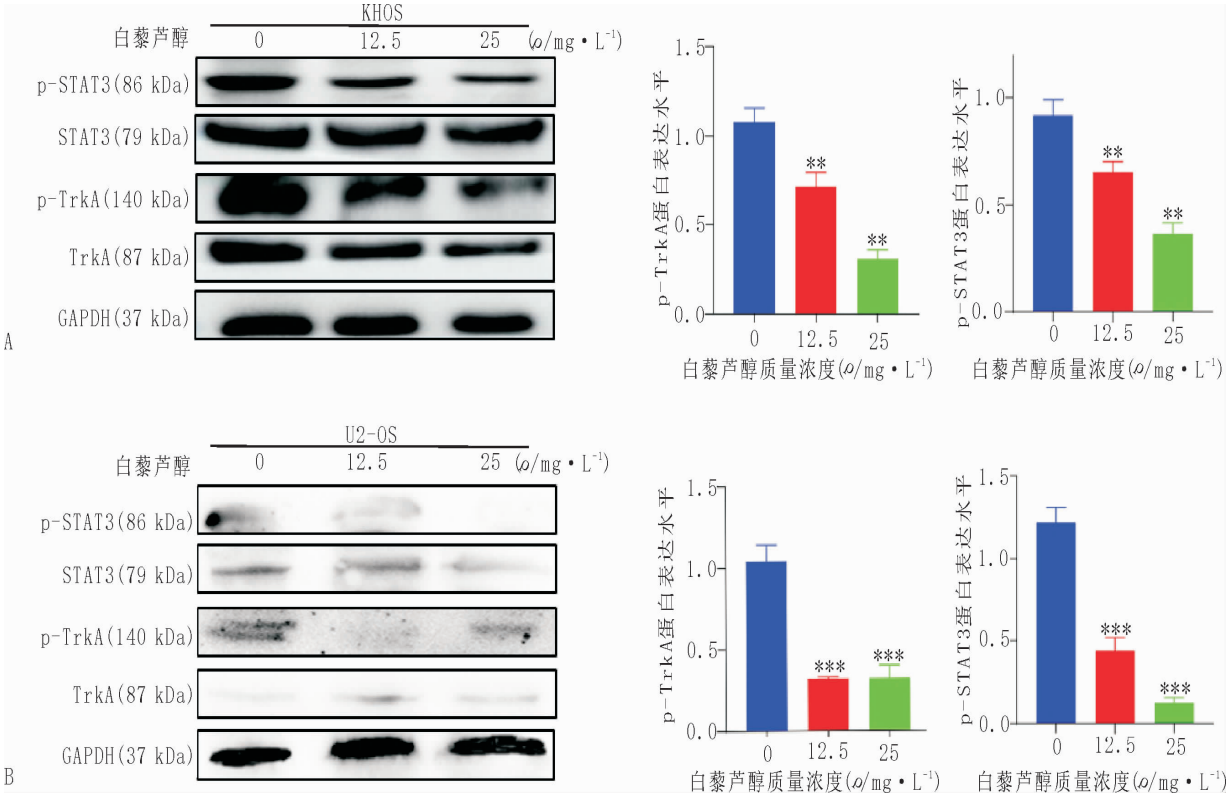
Western blot 显示，与 0 mg·L^{-1}白藜芦醇组比较，12.5、25 mg·L^{-1}白藜芦醇组细胞 Caspase－9、Bcl－2 蛋白表达水平降低（$P<0.01$），Caspase－3 蛋白表达水平升高（$P<0.01$），且具有浓度依赖性，见图 5B。

3.2.3　白藜芦醇可抑制骨肉瘤细胞 TrkA/STAT3 信号通路　研究表明，TrkA 是一种受体酪氨酸激酶，可诱导 STAT3 磷酸化，增强 STAT3 的转录活性，从而抑制细胞增殖，其与多种癌症进展息息相关[41－45]。Western blot 显示，与 0 mg·L^{-1}白藜芦醇组比较，12.5、25 mg·L^{-1}白藜芦醇组细胞 p－TrkA、p－STAT3 蛋白表达水平降低（$P<0.01$），见图 6A、图 6B。



注：A：白藜芦醇作用于骨肉瘤细胞的形态；B：白藜芦醇作用于骨肉瘤细胞的 Caspase－3、Caspase－9、Bcl－2 蛋白表达水平；与 0 mg·L^{-1}白藜芦醇组比较，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

图 5　白藜芦醇对骨肉瘤细胞 KHOS 和 U2－OS 凋亡的影响



注：A：KHOS 细胞 p－TrkA 和 p－STAT3 蛋白表达水平；B：U2－OS 细胞 p－TrkA 和 p－STAT3 蛋白表达水平；与 0 mg·L^{-1} 白藜芦醇组比较，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

图 6　白藜芦醇对骨肉瘤细胞 TrkA/STAT3 信号通路的影响

4　讨论

骨肉瘤归属于中医“恶核”“骨瘤”“石疽”等范畴，病机主要在于寒邪积骨、肝肾亏虚、脾虚聚湿成痰、气血滞骨、热毒聚骨，导致邪毒瘀痰流注于骨，气血凝滞，积而不散，或热毒积聚，侵骨蚀肌，日久生瘤[46－48]。中医药具有抗瘤扶正的作用，能够抑制肿瘤增殖和迁移。运用中医“治未病”理论预防癌前病变，对于放化疗不耐受的患者，可显著改善其生活质量[49－52]。研究表明，中医药可促进肿瘤细胞凋亡和分化，并降低耐药性[53－57]。中药活性成分亦具有显著抗癌作用，如三氧化二砷注射液用于治疗白血病，青蒿素用于治疗疟疾等。紫草素[58－59]、白藜芦醇[35,60－61]、姜黄素[62－64]等中药单体具有抗炎、抗氧化作用，有望成为临床治疗骨肉瘤的新型候选药物。其中，白藜芦醇通过抑制骨肉瘤细胞 miR－139－5p 和 notch1 表达，促进细胞凋亡[65]。

本研究发现，STAT3 可能是白藜芦醇抗骨肉瘤的核心靶点之一。相较于癌旁组织，STAT3 在骨肉瘤组织中呈现出异常高表达，且 p－STAT3 高表达提示患者预后不良[66－70]。STAT3 与骨肉瘤细胞增殖、凋亡、迁移等相关，有望成为骨肉瘤治疗的新型靶点[41,67,70]。TrkA 作为受体酪氨酸激酶，亦是 STAT3 激活激酶。TrkA 和 STAT3 在细胞质中共定位，能够诱导 STAT3 磷酸化，增强 STAT3 转录活性，从而抑制细胞增殖，与多种肿瘤的发生发展息息相关[42－43,45]。研究显示，在三阴性乳腺癌（triple negative breast cancer，TNBC）和 HER2 高表达乳腺癌中，p－STAT3 和 p－TrkA 呈现高表达，共同诱导相关基因转录，促进乳腺癌干细胞生长[45]。在 PC12 细胞中，经过 NGF 处理后，STAT3 的 DNA 结合和转录活性增强，提示 STAT3 激活可能与 NGF 诱导的 TrkA 受体有关[41]。此外，抑制 STAT3 活性可降低细胞周期蛋白 D1 表达，减弱 NGF 在 PC12 细胞中的抗增殖作用，揭示 TrkA 介导的 STAT3 磷酸化与肿瘤细胞增殖、凋亡密切相关[71－72]。本研究显示，白藜芦醇可下调 p－TrkA Tyr490、p－STAT3 Tyr705 表达，抑制 TrkA 与 STAT3 的磷酸化，进而抑制骨肉瘤

细胞的增殖、迁移并促进其凋亡。

综上所述，白藜芦醇可能通过调控 TrkA/STAT3 信号通路抑制骨肉瘤细胞增殖与迁移，促进其凋亡。

参考文献：

[1]MILLER K D, FIDLER - BENAOUDIA M, KEEGAN T H, et al. Cancer statistics for adolescents and young adults, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(6): 443 - 459.

[2]耿磊，陈继营，许猛，等. 骨肉瘤的治疗进展[J]. 中国矫形外科杂志，2015，23(21)：1975 - 1978.

[3]樊靖，张湘生，万军，等. 新辅助化疗联合肱骨头置换治疗肱骨近端骨肿瘤的 13 例疗效分析[J]. 中国矫形外科杂志，2012，20(13)：1241 - 1244.

[4]高明堂，蒋电明，鲁培，等. 新辅助化疗联合肿瘤型人工关节置换治疗膝关节周围骨肉瘤 38 例[J]. 中国矫形外科杂志，2011，19(14)：1205 - 1206.

[5]于秀淳，徐明，王伟，等. 不同新辅助化疗方案治疗骨肉瘤的临床观察[J]. 中国矫形外科杂志，2008，16(19)：1472 - 1474.

[6]侯子伟. 骨肉瘤患者化疗后生活质量的调查研究及化疗后失眠中医证型分布的分析[D]. 济南：山东中医药大学，2021.

[7]浦飞飞，陈凤霞，夏平，等. 骨肉瘤化疗耐药机制及中医药逆转化疗耐药的研究进展[J]. 癌症进展，2022，20(23)：2388 - 2391，2421.

[8]CHEN Y, ZENG H, HOU M M, et al. Azurin regulates P21 and enhances the sensitivity of osteosarcoma cells to cisplatin[J]. Altern Ther Health Med, 2023, 29(7): 119 - 125.

[9]PANEZ - TORO I, MUNOZ - GARCIA J, VARGAS - FRANCO J W, et al. Advances in osteosarcoma[J]. Curr Osteoporos Rep, 2023, 21(4): 330 - 343.

[10]TAN L Y, WANG Y T, HU X, et al. Advances of osteosarcoma models for drug discovery and precision medicine[J]. Biomolecules, 2023, 13(9): 1362.

[11]XU Y L, DU L H, HAN B X, et al. Black phosphorus quantum dots camouflaged with platelet - osteosarcoma hybrid membrane and doxorubicin for combined therapy of osteosarcoma[J]. J Nanobiotechnology, 2023, 21(1): 243.

[12]尹萌辰，许崇卿，王洪伸，等. 基于文献计量学及可视化技术的中医药治疗骨肉瘤研究现状及热点分析[J]. 上海中医药杂志，2021，55(10)：4 - 13.

[13]赵一帆，朱青，朱垚，等. 基于数据挖掘分析骨肉瘤中医药干预的用药规律研究[J]. 陕西中医药大学学报，2024，47(2)：27 - 33.

[14]丁聚贤，谢兴文，许伟，等. 中医药通过调控 ABC 跨膜转运蛋白逆转骨肉瘤化疗耐药的研究进展[J]. 肿瘤防治研究，2021，48(3)：303 - 306.

[15]范利娟，马言，罗亚鸽，等. 骨肉瘤的中医诊疗研究进展[J]. 中国疗养医学，2022，31(8)：845 - 848.

[16]LI Y, LU J Y, BAI F R, et al. Ginsenoside Rg3 suppresses proliferation and induces apoptosis in human osteosarcoma[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 4306579.

[17]ZHAI H J, YE G H, XUE J J, et al. Two new naphthoate derivatives from Morinda officinalis[J]. J Asian Nat Prod Res, 2020, 22(11): 1018 - 1023.

[18]王晓波，支文兰，赵福来，等. 中药有效单体逆转骨肉瘤细胞化疗耐药研究现状[J]. 中华中医药杂志，2022，37(7)：3986 - 3991.

[19]梁春晓，王珊珊，陈淑静，等. 虎杖化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药，2022，53(4)：1264 - 1276.

[20]骆航，孙兴力，李华生，等. 大孔树脂分离纯化虎杖白藜芦醇和蒽醌类成分的工艺优化[J]. 山西中医药大学学报，2021，22(3)：182 - 186.

[21]王元成，伍春，陈虎，等. 桑白皮中白藜芦醇、氧化白藜芦醇和桑皮苷的抗氧化活性[J]. 食品科学，2011，32(15)：135 - 138.

[22]张敉，陈曼，张涵庆，等. 桑白皮的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发，2010，22(3)：416 - 418.

[23]李磊，张宏桂，乔延江. HPLC 法测定土茯苓药材中落新妇苷和白藜芦醇的含量[J]. 药物分析杂志，2007，27(5)：654 - 656.

[24]陈广耀，沈连生，江佩芬. 土茯苓化学成分的研究[J]. 北京中医药大学学报，1996，19(1)：44.

[25]杨春苗，杨东生，萨仁高娃，等. 白藜芦醇化学成分及抗癌药理作用的研究进展[J]. 广东化工，2022，49(21)：108 - 110.

[26]RADZKA J, LAPINSKA Z, SZWEDOWICZ U, et al. Alternations of NF - κB signaling by natural compounds in muscle - derived cancers[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(15): 11900.

[27]WANG B, JIANG H M, QI L M, et al. Deciphering resveratrol's role in modulating pathological pain: From molecular mechanisms to clinical relevance[J]. Phytother Res, 2024, 38(1): 59 - 73.

[28]GENG Z J, CHEN M Q, YU Q X, et al. Histone modification of colorectal cancer by natural products[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2023, 16(8): 1095.

[29]ZHANG Z,TIAN J,LIU W W,et al. Perfluorooctanoic acid exposure leads to defect in follicular development through disrupting the mitochondrial electron transport chain in granulosa cells[J]. Sci Total Environ,2023,905:166954.

[30]PAN X Y,LIU C Q,WANG X,et al. Resveratrol improves palmitic acid - induced insulin resistance via the DDIT4/mTOR pathway in C2C12 cells[J]. Mol Med Rep,2023,28(4):181.

[31]边妍. 白藜芦醇上调 p38MAPK 和 DLC1 促进内质网应激诱导的癌细胞衰老[D]. 济南:山东师范大学,2020.

[32]丁华杰. 白藜芦醇抗肺腺癌活性作用机理预测及实验验证[D]. 柳州:广西科技大学,2020.

[33]马凤秋,高俊英,李国荣,等. 白藜芦醇诱导癌细胞衰老机制的研究进展[J]. 济南大学学报:自然科学版,2021,35(6):614 - 619,632.

[34]任彩佩. 白藜芦醇通过抑制细胞焦亡抗结肠癌的机制[D]. 太原:山西医科大学,2022.

[35]ZHU W T,ZENG X F,YANG H,et al. Resveratrol loaded by folate - modified liposomes inhibits osteosarcoma growth and lung metastasis via regulating JAK2/STAT3 pathway[J]. Int J Nanomedicine,2023,18:2677 - 2691.

[36]WANG Z Y,WANG X,ZHANG D Y,et al. Traditional Chinese medicine network pharmacology:development in new era under guidance of network pharmacology evaluation method guidance[J]. Zhongguo Zhongyao Zazhi,2022,47(1):7 - 17.

[37]RU J L,LI P,WANG J N,et al. TCMSP:a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform,2014,6:13.

[38]CHEN C Y. TCM Database@ Taiwan:the world's largest traditional Chinese medicine database for drug screening in silico[J]. PLoS One,2011,6(1):e15939.

[39]KIM S,CHEN J,CHENG T,et al. PubChem 2023 update[J]. Nucleic Acids Res,2023,51(d1):D1373 - D1380.

[40]DAINA A,MICHIELIN O,ZOETE V. SwissTargetPrediction:updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. Nucleic Acids Res,2019,47(W1):W357 - W364.

[41]NG Y P,CHEUNG Z H,IP N Y. STAT3 as a downstream mediator of Trk signaling and functions[J]. J Biol Chem,2006,281(23):15636 - 15644.

[42]REGUA A T,AGUAYO N R,JALBOUSH S A,et al. TrkA interacts with and phosphorylates STAT3 to enhance gene transcription and promote breast cancer stem cells in triple - negative and HER2 - enriched breast cancers[J]. Cancers(Basel),2021,13(10):2340.

[43]DONG Z P,LIANG X S,ZHANG Q,et al. Folic acid deficiency enhances the Tyr705 and Ser727 phosphorylation of mitochondrial STAT3 in in vivo and in vitro models of ischemic stroke[J]. Transl Stroke Res,2021,12(5):829 - 843.

[44]LIN C Z,REN Z H,YANG X,et al. Nerve growth factor(NGF) - TrkA axis in head and neck squamous cell carcinoma triggers EMT and confers resistance to the EGFR inhibitor erlotinib[J]. Cancer Lett,2020,472:81 - 96.

[45]ROVATI L C,VISINTIN M,CASELLI G,et al. Anti - TrkA antibodies,derivatives and uses thereof[P]. 2016 - 06 - 14.

[46]朱青,朱垚,赵一帆,等. 骨肉瘤中医核心病机分析[J]. 陕西中医药大学学报,2024,47(2):22 - 26.

[47]尹萌辰,王洪伸,孙正望,等. 骨肉瘤中医证候要素诊断量表的构建[J]. 中华中医药杂志,2022,37(10):5938 - 5942.

[48]尹萌辰,王洪伸,孙正望,等. 骨肉瘤中医证候要素诊断量表的临床应用[J]. 中华中医药杂志,2023,38(6):2820 - 2822.

[49]王曼,刘传波,任卫国,等. 基于阴阳五行理论探讨肿瘤转移的特发性和趋向性[J]. 光明中医,2023,38(16):3272 - 3274.

[50]侯敏艳,何亚萍,彭海燕. 基于中医治未病思想谈恶性肿瘤癌前病变的防治[J]. 实用中医内科杂志,2023,37(12):106 - 110.

[51]白璐,钱军. 治气三法理论在恶性肿瘤治疗中的应用[J]. 光明中医,2023,38(16):3206 - 3209.

[52]刘宁. 中医肿瘤类疾病的隐喻认知研究[D]. 北京:北京中医药大学,2021.

[53]刘学伟,娄彦妮,冯哲,等. 从国家自然科学基金资助项目浅谈中医药在恶性肿瘤治疗中的增效减毒作用研究现状[J]. 中国中药杂志,2022,47(1):253 - 258.

[54]熊慧,张明霞,杨明,等. 中药抗肿瘤侵袭、转移及逆转肿瘤耐药性的作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(22):224 - 230.

[55]李冬云,许晶,侯丽,等. 中医药抗肿瘤多药耐药领域的守正创新研究[J]. 医学研究杂志,2021,50(11):1 - 4,15.

[56]张悦,林怡,陶丽. 中医药逆转抗肿瘤药物耐药的机制探讨[J]. 中华中医药学刊,2023,41(5):183 - 189.

[57]卫真真,季青,朱惠蓉. 肿瘤微环境中不同细胞来源外

泌体对肿瘤耐药的影响及中医药干预研究[J]. 上海中医药大学学报,2022,36(2):1 - 8.

[58]缪明星,黄莉莉,王欣. 紫草素通过内质网应激蛋白抑制人骨肉瘤 U - 2 OS 细胞增殖的研究[J]. 现代药物与临床,2019,34(10):2899 - 2904.

[59]杨志强,陈路,张雅茜,等. 紫草素通过调节 PI3K/AKT 途径抑制骨肉瘤生长和作用机制研究[J]. 中国比较医学杂志,2022,32(1):68 - 74,96.

[60]DE LUCA A,BELLAVIA D,RAIMONDI L,et al. Multiple effects of resveratrol on osteosarcoma cell lines[J]. Pharmaceuticals (Basel),2022,15(3):342.

[61]WANG Q Q,LIN Q,SHAN W Y,et al. Effects of fucoidan inducing impairment of human osteosarcoma cell 143B and its mechanism[J]. Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi,2022,38(6):739 - 744.

[62]XU C F,WANG M J,ZANDIEH D B,et al. Paradox:curcumin,a natural antioxidant,suppresses osteosarcoma cells via excessive reactive oxygen species[J]. Int J Mol Sci,2023,24(15):11975.

[63]KELLY B,THAMM D,ROSENGREN R J. The second - generation curcumin analogue RL71 elicits G2/M cell cycle arrest and apoptosis in canine osteosarcoma cells[J]. Vet Comp Oncol,2023,21(4):595 - 604.

[64]HAN R J,MIN Y J,LI G L,et al. Supercritical CO_2 - assisted fabrication of CM - PDA/SF/nHA nanofibrous scaffolds for bone regeneration and chemo - photothermal therapy against osteosarcoma[J]. Biomater Sci,2023,11(15):5218 - 5231.

[65]XIAO X H,ZHANG Y Q,PAN W N,et al. miR - 139 - mediated NOTCH1 regulation is crucial for the inhibition of osteosarcoma progression caused by resveratrol[J]. Life Sci,2020,242:117215.

[66]WANG K D,ZHU M L,QIN C J,et al. Sanguinarine induces apoptosis in osteosarcoma by attenuating the binding of STAT3 to the single - stranded DNA - binding protein 1 (SSBP1) promoter region[J]. Br J Pharmacol,2023,180(24):3175 - 3193.

[67]AMER M F,MOHAMED A,ISMAIL A,et al. Possible role of IL - 6R/STAT3/MiRNA - 34a feedback loop in osteosarcoma[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2023,24(9):3269 - 3274.

[68]ZHU M,SUN Y Y,XUE H W,et al. NEK6 promotes the progression of osteosarcoma through activating STAT3 signaling pathway by down - regulation of miR - 26a - 5p[J]. Int J Gen Med,2023,16:2831 - 2848.

[69]RYU K,SUSA M,CHOY E,et al. Oleanane triterpenoid CDDO - Me induces apoptosis in multidrug resistant osteosarcoma cells through inhibition of Stat3 pathway[J]. BMC Cancer,2010,10:187.

[70]RYU K,CHOY E,YANG C,et al. Activation of signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) pathway in osteosarcoma cells and overexpression of phosphorylated - Stat3 correlates with poor prognosis[J]. J Orthop Res,2010,28(7):971 - 978.

[71]MIRANDA C,FUMAGALLI T,ANANIA M C,et al. Role of STAT3 in in vitro transformation triggered by TRK oncogenes[J]. PLoS One,2010,5(3):e9446.

[72]CASTELLON R,MIRKIN B L. Nerve growth factor regulates neuroectodermal tumor cell responses to mitogenic growth factors[J]. J Neurosci Res,2003,72(2):239 - 249.

收稿日期:2025 - 06 - 10

作者简介:郝洋(1996 -),男,河南南阳人,硕士研究生,研究方向:中医药防治骨肿瘤相关疾病。

通信作者:李记天,男,医学博士,主任医师,博士研究生导师,研究方向:中医药防治脊柱和骨肿瘤相关疾病。E - mail:jitianlee@ hotmail. com

编辑:刘凯歌