[文章编号] 1671-587X(2026)04-0953-10 DOI:10.13481/j.1671-587X.20260408

CA3联合JSI-124对小鼠肺癌皮下移植瘤生长的抑制作用及其对淋巴细胞增殖和凋亡的影响

邓明星[1,2]，马 芳[1]，王光川[1]，于 广[1]，苗 苗[1]
（1. 锦州医科大学基础医学院免疫学教研室，辽宁 锦州 121000；2. 陕西省宝鸡市中医医院检验科，陕西 宝鸡 721000）

[摘 要] **目的：**探讨CA3联合JSI-124对小鼠肺癌皮下移植瘤的潜在治疗作用及其对淋巴细胞的影响，并阐明其可能的作用机制。**方法：**取4种非小细胞肺癌（NSCLC）细胞（LLC、H460、H292和LA795），采用细胞计数试剂盒8（CCK-8）法及流式细胞术检测CA3作用前后4种NSCLC细胞（LLC、H460、H292和LA795）存活率和凋亡率，锥虫蓝染色检测4种NSCLC细胞形态表现，羧基荧光素琥珀酰亚胺酯（CFSE）染色检测脾淋巴细胞中CFSE表达水平，流式细胞术检测脾细胞凋亡率。取对数生长期的小鼠LLC细胞，将其接种于C57BL/6小鼠皮下建立皮下移植瘤模型，造模成功后小鼠随机分为对照组、CA3组、JSI-124组和CA3＋JSI-124组，每组4只。对照组小鼠腹腔注射含有二甲基亚砜（DMSO）的磷酸盐缓冲液（PBS），CA3组和JSI-124组小鼠分别腹腔注射1 mg·kg^{-1} CA3和1 mg·kg^{-1} JSI-124，CA3＋JSI-124组小鼠腹腔注射1 mg·kg^{-1} CA3＋1 mg·kg^{-1} JSI-124，于第18天给药结束24 h后，将小鼠脱颈处死，剥离瘤体组织，取胸腺和脾脏，称量并记录小鼠瘤质量、脾脏质量和胸腺质量。采用流式细胞术检测荷瘤小鼠的脾脏和胸腺中淋巴细胞表型变化。**结果：**体外实验，CA3对4种NSCLC细胞和脾淋巴细胞呈现出时间和剂量依赖性的抑制作用，且2 mmol·L^{-1} CA3处理4种NSCLC细胞72 h后抑制增殖效果均可达到最佳。与对照组比较，处理72 h后，2 mmol·L^{-1} CA3组4种NSCLC细胞凋亡率升高（$P<0.01$）。与对照组比较，2 mmol·L^{-1} CA3组脾脏淋巴细胞增殖率降低（$P<0.01$），且脾细胞凋亡率升高（$P<0.01$）。体内实验，与对照组比较，CA3组小鼠瘤质量差异无统计学意义（$P>0.05$），CA3＋JSI-124组小鼠瘤质量降低（$P<0.01$）。与对照组比较，CA3＋JSI-124组小鼠脾脏中T淋巴细胞、B淋巴细胞和T淋巴细胞亚群百分率，胸腺中T淋巴细胞及T淋巴细胞亚群百分率差异均无统计学意义（$P>0.05$）。**结论：**CA3能够抑制体外NSCLC细胞增殖，诱导细胞凋亡，对脾脏淋巴细胞具有抑制作用。CA3与JSI-124联合应用可明显抑制小鼠肺癌皮下移植瘤的生长，且对胸腺和脾脏质量、胸腺和脾脏中T淋巴细胞和B淋巴细胞无明显影响。

[关键词] 癌，非小细胞肺；CA3；JSI-124；淋巴细胞；胸腺；脾脏
[中图分类号] R392.5；R734.2 [文献标志码] A

[收稿日期] 2026-01-07 [录用日期] 2026-05-07
[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目（81903109）；辽宁省科技厅联合计划博士启动项目（2025-BSLH-129）
[作者简介] 邓明星（1995－），男，陕西省宝鸡市人，检验师，医学硕士，主要从事肿瘤免疫相关方面的研究。
[通信作者] 于 广，教授，硕士研究生导师（E-mail：ly65401@sina.cn）；
苗 苗，讲师（E-mail：miaomiao@jzmu.edu.cn）

©《吉林大学学报（医学版）》编辑部，开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。
© Editorial Board of Journal of Jilin University（Medicine Edition）. Open access under CC BY-NC-ND license.

Inhibitory effect of CA3 combined with JSI-124 on growth of lung cancer subcutaneous allografts in mice and its influence on lymphocyte proliferation and apoptosis

DENG Mingxing[1,2], MA Fang[1], WANG Guangchuan[1], YU Guang[1], MIAO Miao[1]

(1. Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Hospital of Traditional Chinese Medicine, Baoji City, Shaanxi Province, Baoji 721000, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the potential therapeutic effect of CA3 combined with JSI-124 on lung cancer subcutaneous allografts in the mice and its influence on the lymphocytes, and to clarify its possible mechanism. Methods: Four kinds of non-small cell lung cancer (NSCLC) cells (LLC, H460, H292 and LA795) were used. The cell counting kit-8 (CCK-8) method and flow cytometry were used to detect the survival rates and apoptotic rates of the four kinds of NSCLC cells before and after CA3 treatment; the morphology of four kinds of NSCLC cells was detected by trypan blue staining; carboxyfluorescein succinimidyl ester (CFSE) staining was used to detect the expression level of CFSE in splenic lymphocytes; flow cytometry was used to detect the apoptotic rate of splenocytes. The LLC cells at logarithmic growth phase were subcutaneously inoculated into the C57BL/6 mice to establish subcutaneous allograft models. After successful modeling, the mice were were randomly divided into control group, CA3 group, JSI-124 group, and CA3+JSI-124 group, with 4 mice in each group. The mice in control group were intraperitoneally injected with phosphate buffer saline (PBS) containing dimethyl sulfoxide (DMSO), the mice in CA3 group and JSI-124 group were intraperitoneally injected with CA3 and JSI-124 at a dose of 1 mg·kg^{-1}, respectively; the mice in CA3+JSI-124 group were intraperitoneally injected with 1 mg·kg^{-1} CA3 and 1 mg·kg^{-1} JSI-124. At 24 h after the last administration on day 18, the mice were sacrificed by cervical dislocation, and the tumor tissues were removed; the thymus and spleen were taken, and the tumor mass, spleen mass and thymus mass were weighed. Flow cytometry was used to detect the phenotypic changes of lymphocytes in spleen and thymus of the tumor-bearing mice. Results: The *in vitro* experiment results showed that CA3 exhibited time- and dose-dependent inhibitory effects on the four kinds of NSCLC cells and splenic lymphocytes, and the optimal inhibitory effect on proliferation was achieved after treatment with 2 mmol·L^{-1} CA3 for 72 h. Compared with control group, the apoptotic rates of four kinds of NSCLC cells in 2 mmol·L^{-1} CA3 group were increased at 72 h after treatment ($P<0.01$). Compared with control group, the proliferation rate of splenic lymphocytes in 2 mmol·L^{-1} CA3 group was decreased ($P<0.01$), and the apoptotic rate of splenocytes was increased ($P<0.01$). The *in vivo* experiment results showed that compared with control group, the difference in tumor mass of mice in CA3 group was not statistically significant ($P>0.05$), while the tumor mass of the mice in CA3+JSI-124 group was decreased ($P<0.01$). Compared with control group, the differences in the percentages of T lymphocytes, B lymphocytes and T lymphocyte subsets in spleen, and T lymphocytes and T lymphocyte subsets in thymus of the mice in CA3+JSI-124 group were not statistically significant ($P>0.05$). Conclusion: CA3 can inhibit the proliferation of NSCLC cells and induce apoptosis *in vitro*, but it has inhibitory effect on splenic lymphocytes. The combination of CA3 and JSI-124 can significantly inhibit the growth of lung cancer subcutaneous allografts in the mice, with no significant effects on the mass of thymus and spleen, or the T lymphocytes and B lymphocytes in the thymus and spleen.

KEYWORDS Carcinoma, non-small-cell lung; CA3; JSI-124; Lymphocyte; Thymns; Spleen

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一，全世界范围内肺癌死亡人数超过任何其他类型的恶性肿瘤，且发病率和死亡率都呈上升趋势，其中非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer，NSCLC）占肺癌的80%～85%[1]。化疗是NSCLC治疗方法之一，而化疗常给患者带来不满意的疗效，并常伴有严重甚至致命的不良反应，如心脏毒性、肝肾损伤和免疫毒性以及耐药性。因此，需要开发更有效和安全的药物制剂用于NSCLC治疗。

CA3亦称CIL56，起初被认为是一种可影响活性氧（reactive oxygen species，ROS）生成和脂肪酸生物合成，并限制新生脂类合成限速酶乙酰辅酶A羧化酶1（acetyl-CoA carboxylase 1，ACC1）活性而触发细胞死亡的小分子化合物[2]。近年来，CA3在抑制肿瘤细胞增殖等方面的作用日益受到重视。在肝细胞癌（hepatocellular carcinoma，HCC）的研究中，CA3能靶向抑制Yes相关蛋白1（Yes-associated protein 1，YAP1）/转录辅激活因子含PDZ结合基序的转录共激活子（transcriptional coactivator with PDZ-binding motif，TAZ），对HCC细胞表现出较强的细胞毒性作用[3]。此外，研究[4-8]显示：CA3在黑色素瘤、食管癌、间皮瘤和胰腺癌中均有抗肿瘤作用。但CA3对不同类型NSCLC的作用及其对免疫细胞功能的影响尚未见报道。

JSI-124亦称葫芦素I，能特异性阻断信号转录传导与激活因子3（signal transducer and activator of transcription 3，STAT3）信号通路[9]，从而抑制肿瘤生长。研究[10-14]显示：JSI-124在肺癌、口腔鳞状细胞癌、乳腺癌和胃癌等多种癌症中均有抗肿瘤活性。研究[15]显示：NSCLC对表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）靶向治疗的抵抗依赖于STAT3和YAP1双重网络信号的活化。最新体内外实验研究[16-17]则进一步证实靶向YAP1和STAT3具有高度协同作用。然而，联合使用CA3（YAP1抑制剂）和JSI-124（STAT3抑制剂）是否能够协同抑制NSCLC尚未见报道。

本研究通过体外实验探讨CA3对NSCLC的作用及其对免疫细胞的影响，并通过小鼠肺癌皮下移植瘤模型探讨CA3与JSI-124联合应用对NSCLC的潜在治疗作用以及对免疫细胞的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物、细胞、主要试剂和仪器 16只8～10周的C57BL/6小鼠，体质量为20～23 g，购于北京维通利华实验动物技术有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（京）2016-0011。C57BL/6小鼠饲养于锦州医科大学，取材均遵照实验管理与保护的有关规定。人源NSCLC H460细胞、H292细胞、小鼠肺腺癌LLC细胞、LA795细胞和小鼠脾细胞均购自中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物研究所。

CA3购自美国Selleck公司，JSI-124购自美国Cayman chemical公司，使用二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide，DMSO）作为溶剂配制成储存液，置于－20 ℃保存。红细胞裂解液购自北京索莱宝科技有限公司，二辛可宁酸（bicinchoninic acid，BCA）蛋白检测试剂盒、细胞计数试剂盒8（cell countin kit-8，CCK-8）试剂盒、增强化学发光（enhanced chemiluminescence，ECL）试剂盒（强）、放射性免疫沉淀分析（radioimmunoprecipitation assay，RIPA）裂解液（强）、Tween-20、1 mol·L^{-1} Tris-HCl（pH6.8）、1.5 mol·L^{-1} Tris-HCl（pH8.8）和30%丙烯酰胺溶液均购自上海碧云天生物技术有限公司，RPMI-1640培养基和杜尔贝科改良Eagle（Dulbecco's modified Eagle medium，DMEM）培养基购自美国Gibco公司，1%青-链霉素溶液、胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）、膜联蛋白Ⅴ（Annexin Ⅴ）/7-氨基放线菌素D（7-aminoactinomycin D，7-AAD）、抗小鼠分化簇（cluster of differentiation，CD）28抗体、抗小鼠CD3抗体和羧基荧光素琥珀酰亚胺酯（carboxyfluorescein succinimidyl ester，CFSE）细胞染色液均购自美国Biolegend公司，CD4、CD8和CD19抗体购自天津三箭生物技术股份有限公司。YAP1（D8H1X）、YAP1/TAZ（D2414）、磷酸化YAP1（phosphorylated YAP1，p-YAP1）（Ser109）和磷酸化TAZ（phosphorylated TAZ，p-TAZ）（S89）抗体购自美国Cell Signaling Technology公司。

多功能酶标仪、4 ℃离心机和OmegaLum C化学发光成像系统购自美国Thermo公司，电子天平购自北京赛多利斯天平有限公司，涡旋仪购自江苏海门市其林贝尔仪器制造厂，迷你离心机购自昊诺斯生物公司，微量加样器购自法国吉尔森公司，电泳仪、湿转转膜槽购自北京六一仪器厂，TY-80B脱色摇床购自南京普阳公司，金属浴加热器购自北京科博赛尔科技有限公司，二氧化碳孵箱购自美国

Sheldon Manufacturing Inc公司，聚焦流式细胞仪BD FACSCanto Ⅱ购自美国BD医疗器械有限公司，超净工作台购自江苏吴县市净化技术研究所，－80 ℃冰箱购自中科美菱公司。

1.2 细胞培养 H460、H292、LA795和小鼠脾细胞置于含10% FBS及1%青-链霉素的RPMI-1640培养基中培养，小鼠LLC细胞于DMEM培养基中培养。肺癌细胞分组：将4种NSCLC细胞（H460、H292、LLC和LA795）分为对照组（0 mmol·L^{-1} CA3）和2 mmol·L^{-1} CA3组。小鼠脾脏淋巴细胞增殖抑制率和凋亡率检测分组：①对照组：CD3抗体（2.5 mg·L^{-1}）＋CD28抗体（10 mg·L^{-1}）＋白细胞介素2（interleukin-2，IL-2）（1 000 U·mL^{-1}）；②1 mmol·L^{-1} CA3组：CD3抗体（2.5 mg·L^{-1}）＋CD28抗体（10 mg·L^{-1}）＋IL-2（1 000 U·mL^{-1}）＋CA3（1 mmol·L^{-1}）；③2 mmol·L^{-1} CA3组：CD3抗体（2.5 mg·L^{-1}）＋CD28抗体（10 mg·L^{-1}）＋IL-2（1 000 U·mL^{-1}）＋CA3（2 mmol·L^{-1}）。

1.3 CCK-8法检测4种NSCLC细胞存活率并计算半数抑制浓度（half maximal inhibitory concentration，IC_{50}）值 取对数生长期的4种NSCLC细胞，以每孔7 000 μL个细胞接种于96孔细胞培养板，置于37 ℃培养箱中继续培养。待细胞贴壁后，采用0、0.5、1.0、1.5和2.0 mmol·L^{-1} CA3分别处理H460、H292、LLC和LA795细胞48及72 h，采用CCK-8法检测各组细胞活性，筛选CA3最佳作用浓度和作用时间。计算IC_{50}值。各组细胞处理完成后加入10 μL CCK-8溶液，37 ℃孵育30 min，采用酶标仪在450 nm波长处测定吸光度（A）值，计算细胞存活率。细胞存活率＝（实验孔A值－空白孔A值）/（对照孔A值－空白孔A值）×100%。

1.4 流式细胞术检测4种NSCLC细胞凋亡率 取对数生长期的4种NSCLC细胞，以7000/200 μL/孔接种于96孔细胞培养板，置于37 ℃培养箱中继续培养。待细胞贴壁后，采用0 mmol·L^{-1}（对照组）和2 mmol·L^{-1} CA3分别处理H460、H292、LLC和LA795细胞，培养72 h，收集细胞，进行Annexin Ⅴ-藻红蛋白（phycoerythrin，PE）和7-AAD染色，流式细胞术检测4种NSCLC细胞凋亡率。细胞凋亡率＝Annexin Ⅴ$^{+}$7-AAD^{-}百分率＋Annexin Ⅴ$^{+}$7-AAD^{+}百分率。

1.5 锥虫蓝染色检测4种NSCLC细胞形态表现 根据“1.4”中步骤，在4种细胞培养72 h后，弃上清，加入20 μL锥虫蓝染液，静置1 min，于倒置显微镜下拍照记录，观察经CA3处理后NSCLC细胞形态表现。

1.6 CFSE染色检测脾淋巴细胞中CFSE表达水平并计算脾淋巴细胞增殖抑制率 采用CD3抗体（2.5 mg·L^{-1}）和CD28抗体（5 mg·L^{-1}）包被96孔细胞培养板，4℃过夜。无菌条件下，取小鼠脾细胞，调整浓度为2×10^{6} mL^{-1}，随后加入CFSE（5 mmol·L^{-1}），37 ℃水浴20 min，加完全培养基5 mL终止反应，磷酸盐缓冲盐水（Phosphate-Buffered Saline，PBS）洗涤2次。将各组脾细胞加入96孔细胞培养板中（每孔200 μL），培养72 h，于倒置显微镜下拍照并记录，计算脾脏淋巴细胞中CFSE表达水平。并计算脾淋巴细胞增殖抑制率。

1.7 流式细胞术检测各组小鼠脾细胞凋亡率 按“1.6”步骤处理小鼠脾细胞，培养72 h后，收集细胞进行Annexin Ⅴ-PE和7-AAD染色，采用流式细胞术检测小鼠脾细胞凋亡率。细胞凋亡率＝凋亡细胞数/细胞总数×100%。

1.8 小鼠肺癌皮下移植瘤的制备和分组处理 取对数生长期的小鼠NSCLC细胞LLC，使用PBS缓冲液调整细胞悬液密度为1×10^{7} mL^{-1}，于小鼠背部皮下注射，细胞悬液注射体积为每只小鼠100 μL。接种5 d后，若在皮下触诊发现质地坚硬且边缘清晰可辨的结节，即为移植瘤模型构建成功。随后将荷瘤小鼠随机分为对照组、CA3组、JSI-124组和CA3＋JSI-124组，每组4只。对照组小鼠腹腔注射100 μL含DMSO的PBS缓冲液，每日1次，连续注射18 d；CA3组小鼠腹腔注射100 μL含DMSO的CA3（1 mg·kg^{-1}）[3]溶液，每日1次，连续注射18 d；JSI-124组小鼠腹腔注射100 μL含DMSO的JSI-124（1 mg·kg^{-1}）[18]溶液，每日1次，连续注射18 d；CA3＋JSI-124组小鼠腹腔注射100 μL含DMSO的CA3（1 mg·kg^{-1}）和JSI-124（1 mg·kg^{-1}）溶液，每日1次，连续注射18 d。用药结束24 h后，将小鼠脱颈处死，剥离瘤体组织，称质量并记录小鼠瘤质量、脾脏质量和胸腺质量。

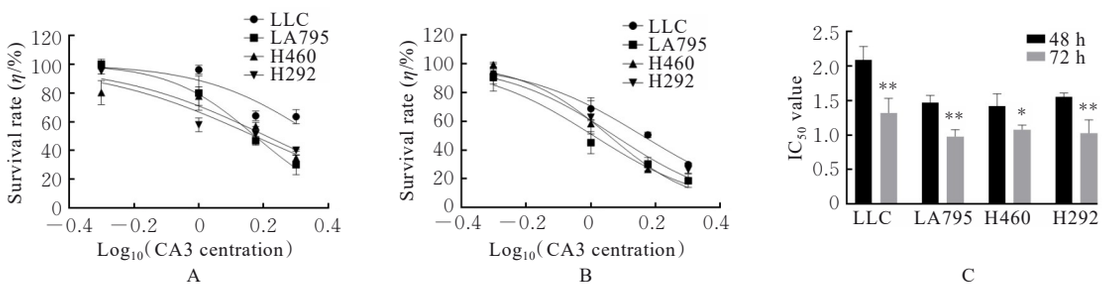
1.9 流式细胞术检测各组荷瘤小鼠脾脏和胸腺中淋巴细胞表型百分率 取各组荷瘤小鼠脾脏和胸腺，称质量并记录，收集荷瘤小鼠脾脏和胸腺细胞，1 500 r·min^{-1}离心5 min，弃上清，脾细胞中

加入红细胞裂解液，混匀，冰上静置5 min，胸腺细胞无需红细胞裂解，收集2种细胞后，PBS缓冲液洗涤2次。CD3、CD4、CD8和CD19抗体染色（可参照抗体说明书操作）。染色结束后，PBS缓冲液洗涤2次，加入400 μL PBS缓冲液，混匀，流式细胞术检测各淋巴细胞表型百分率。

1.10 统计学分析 采用SPSS 21.0软件进行统计学分析。各组NSCLC细胞存活率、IC_{50}值、NSCLC细胞凋亡率、脾淋巴细胞增殖抑制率、脾细胞凋亡率、小鼠瘤质量、脾脏质量、胸腺质量、荷瘤小鼠脾脏和胸腺中淋巴细胞表型百分率均符合正态分布，以$\bar{x}\pm s$表示，多组间样本数比较采用单因素方差分析，组间样本均数两两比较采用独立样本t检验。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 4种NSCLC细胞存活率和IC_{50}值 采用0、0.5、1.0、1.5和2.0 mmol·L^{-1} CA3处理4种NSCLC细胞48及72 h。CA3处理48 h时，LLC、LA795、H460和H292细胞的IC_{50}值分别为2.085±0.199、1.473±0.103、1.421±0.178和1.554±0.057；当CA3作用72 h时，LLC、LA795、H460和H292细胞的IC_{50}值分别为1.322±0.210、0.976±0.102、1.081±0.064及1.030±0.190（图1A～1C）。CA3处理72 h时，LLC、LA795、H460和H292的IC_{50}值较处理48 h时明显降低（$P<0.05$或$P<0.01$），说明CA3对NSCLC细胞具有抑制作用且呈时间依赖性。因此本研究选择抑制效果更好的72 h作为后续实验的干预时间点。4种NSCLC细胞的IC_{50}值有所差异，但在2 mmol·L^{-1} CA3作用后均能达到较好的抑制效果，故选择2 mmol·L^{-1}作为后续用药浓度。



A，B：The Cell viabilities of NSCLC cells at 48 h (A) and 72 h (B)；C：IC_{50} values of NSCLC cells. $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ compared with 48 h survival rates.

图1 4种NSCLC细胞存活率和IC_{50}值

Fig. 1 Survival rates and IC_{50} values of four types of NSCLC cells

2.2 4种NSCLC细胞形态表现 2 mmol·L^{-1} CA3处理细胞72 h后，锥虫蓝染色显示：与对照组比较，2 mmol·L^{-1} CA3组后4种NSCLC细胞均出现细胞皱缩、胞膜破裂和细胞溶解，细胞密度低且无细胞群落形成（图2），从形态学上初步判断CA3能够诱导NSCLC细胞凋亡。

2.3 4种NSCLC细胞凋亡率 流式细胞术检测结果显示：与对照组比较，2 mmol·L^{-1} CA3组4种NSCLC细胞，凋亡率明显升高（$P<0.01$）。见图3。表明CA3能够诱导4种NSCLC细胞凋亡。

2.4 各组小鼠脾脏淋巴细胞增殖抑制率 作用48和72 h后，与对照组比较，1 mmol·L^{-1} CA3组脾淋巴细胞增殖抑制率升高（$P<0.01$），2 mmol·L^{-1} CA3组脾淋巴细胞增殖抑制率亦升高（$P<0.01$）；同时脾细胞密度明显降低，提示脾脏淋巴细胞增殖被CA3抑制。见图4。

2.5 各组小鼠脾细胞凋亡率 处理48和72 h后，与对照组比较，1 mmol·L^{-1} CA3组脾细胞凋亡率升高（$P<0.05$），2 mmol·L^{-1} CA3组脾细胞凋亡率明显升高（$P<0.01$）。见图5。

2.6 各组小鼠肺癌皮下移植瘤质量和脾脏及胸腺质量 与对照组比较，JSI-124组和CA3＋JSI-124组小鼠瘤质量分别减小了（13.4±0.5）%和（64.5±2.5）%（$P<0.05$或$P<0.01$）；各组小鼠脾脏及胸腺的形态和色泽等区别不大，且胸腺和脾脏质量比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。见图6。

2.7 各组荷瘤小鼠脾脏和胸腺中淋巴细胞表型百分率 各组荷瘤小鼠脾脏和胸腺中$CD3^{+}$ T淋巴细胞百分率比较差异无统计学意义（$P>0.05$），且脾脏中$CD19^{+}$ B淋巴细胞百分率比较差异也无统

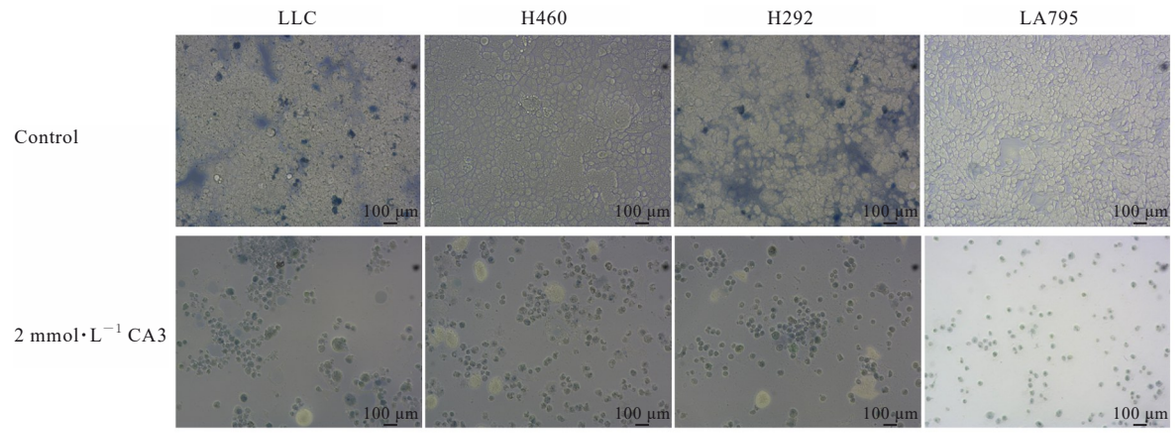
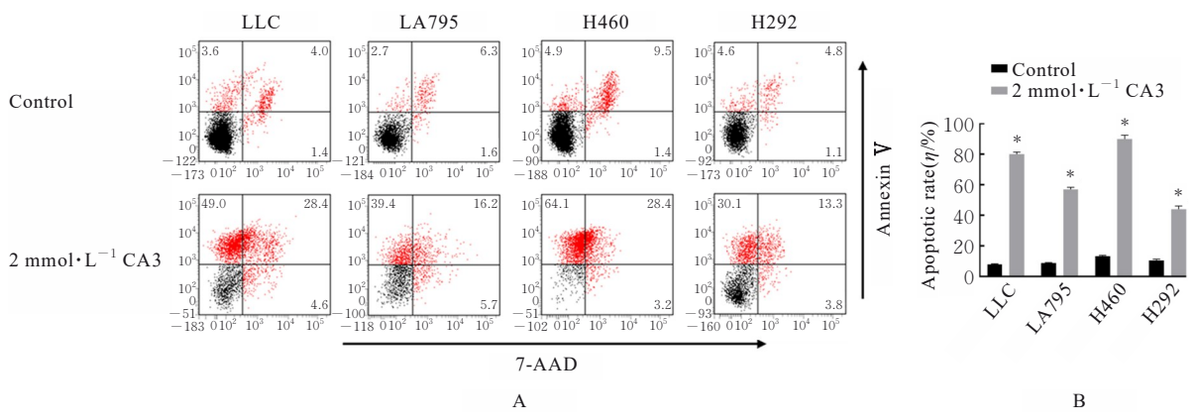


图 2 4种 NSCLC 细胞的形态表现（锥虫蓝）

Fig. 2 Morphology of four kinds of NSCLC cells(Trypan blue)



A：Flow cytometry diagram；B：Histogram. $^{*}P<0.01$ compared with control group.

图 3 4种 NSCLC 细胞凋亡率

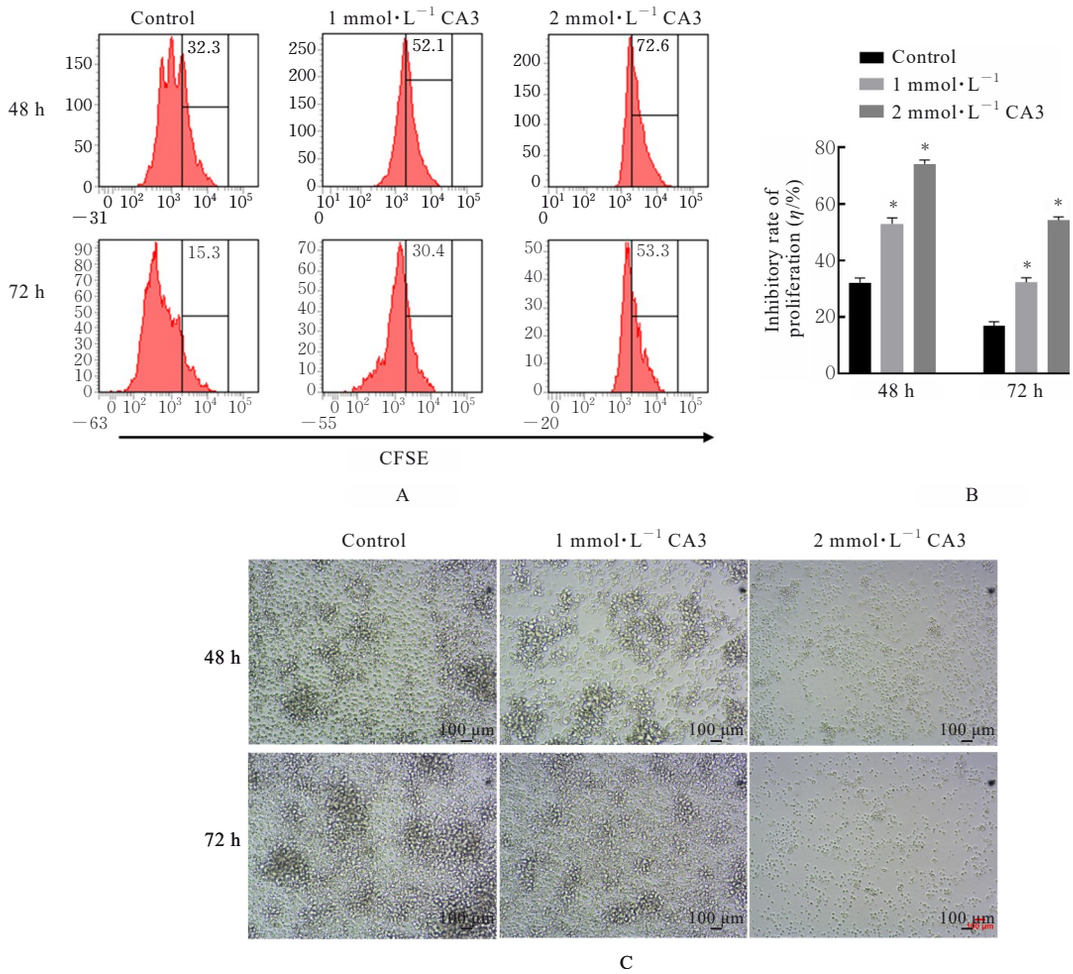
Fig. 3 Apoptotic rates of four kinds of NSCLC cells

计学意义（$P>0.05$），表明 CA3 和 JSI-124 联合使用对胸腺内成熟 T 淋巴细胞和脾脏内的 T 和 B 淋巴细胞数量均无影响；T 淋巴细胞亚群的流式细胞术检测结果显示：各组荷瘤小鼠脾脏和胸腺中 $CD4^{-}CD8^{+}$、$CD4^{+}CD8^{-}$、$CD4^{+}CD8^{+}$ T 淋巴细胞百分率比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）。见图 7。

3 讨 论

肺癌是起源于支气管粘膜/腺体的肺部恶性肿瘤，是我国最常见的恶性肿瘤，从病理和治疗角度，肺癌大致可以分为 NSCLC 和小细胞肺癌两大类，其中 NSCLC 约占 80%～85%，包括腺癌、鳞癌等组织学亚型[19]。在过去 20 年中，随着我国医疗技术的蓬勃发展，其他癌症的 5 年生存率都已得到明显改善，但我国 NSCLC 患者的 5 年生存率仅为 30%～40%。传统的放疗和化疗属于非特异性杀伤，对正常分裂细胞均有杀伤和抑制作用，而小分子抑制剂是仅针对肿瘤细胞特有的异常信号通路或分子的靶向治疗药物，对正常细胞的生理通路影响极小[20-21]。

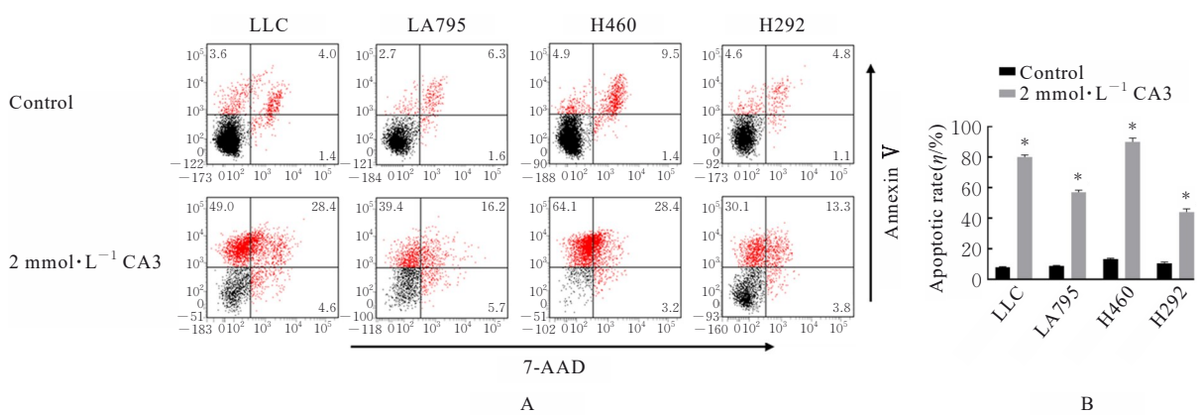
CA3 作为一种新型的小分子抑制剂，能通过靶向 YAP1/Tead 转录通路、干扰脂质代谢及线粒体 β-氧化，在多种难治性实体瘤中发挥清除肿瘤干细胞的作用，并可抑制多种肿瘤生长[3-8]。本研究结果显示：与对照组比较，2 mmol·L^{-1} CA3 能够抑制 NSCLC H460、H292、LLC 和 LA795 细胞的增殖；锥虫蓝染色后，与对照组比较，2 mmol·L^{-1} CA3 组 4 种肺癌细胞密度明显减少，细胞膜破裂而被染成蓝色；流式细胞术检测结果显示：与对照组比较，2 mmol·L^{-1} CA3 肿瘤细胞凋亡率升高。H460 属于人大细胞肺癌细胞，H292 属于人肺腺癌细胞，而 LA795 和 LLC 均属小鼠肺腺癌细胞，提示 CA3



A: Flow cytometry diagram; B: Histogram(*P<0.01 compared with control group); C: Trypan blue staining.

图4 各组小鼠脾脏中淋巴细胞体外增殖情况

Fig. 4 Proliferation of lymphocytes in spleen of mice in various groups *in vitro*



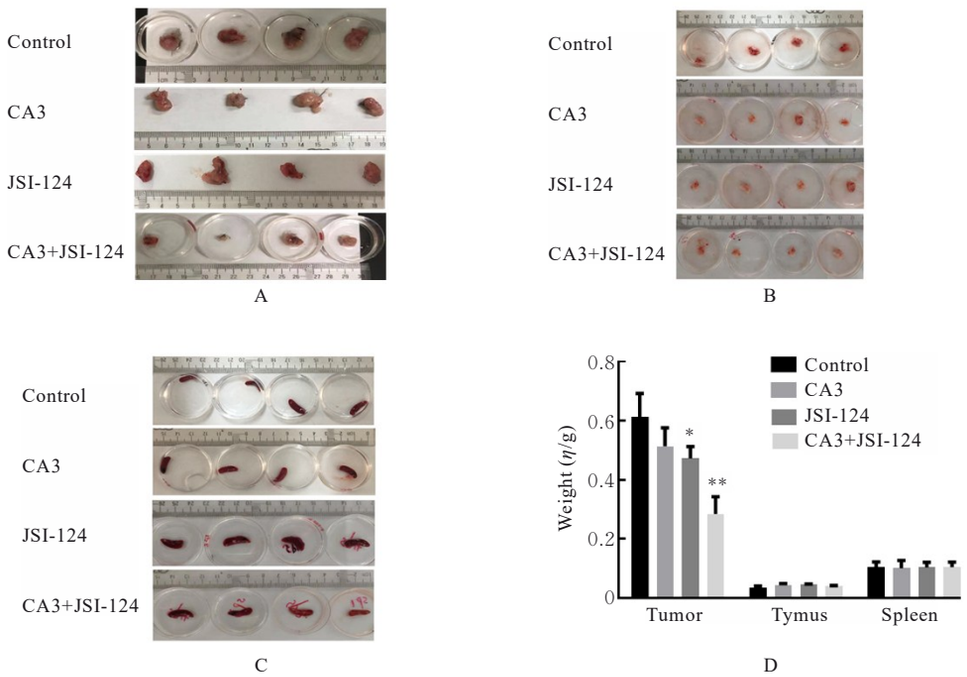
A: Flow cytometry diagram; B: Histogram (*P<0.05, **P<0.01 compared with control group).

图5 各组小鼠脾细胞凋亡率

Fig. 5 Apoptotic rates of splenocytes in mice in various groups

对人源和鼠源的NSCLC细胞抑制作用无明显差异。

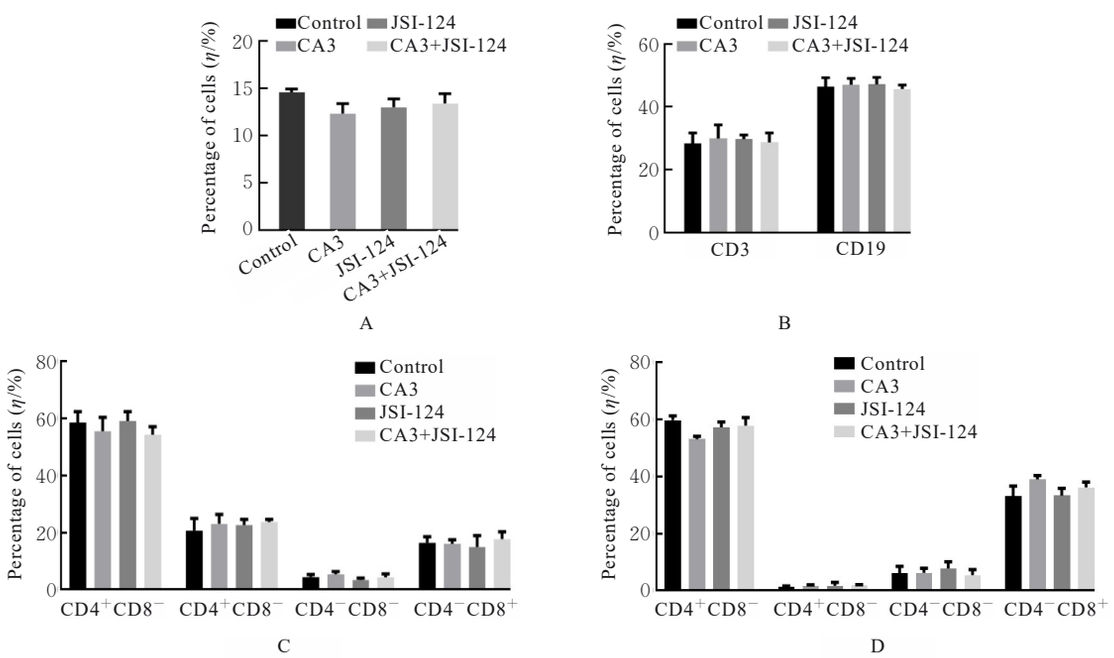
免疫细胞在机体抗肿瘤过程中发挥重要作用[22]，而多数放、化疗治疗可能形成免疫抑制[23]。本研究结果显示：与对照组比较，1 mmol·L^{-1} CA3组和2 mmol·L^{-1} CA3组脾脏淋巴细胞增殖降低，且脾细胞凋亡率升高，提示CA3可能在诱导肿瘤细



A：Tumor；B：Spleen；C：Thymus；D：Weights of tumor，spleen and thymus in mice（$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$ compared with control group）.

图 6 各组小鼠肺癌皮下移植瘤质量和脾脏及胸腺质量

Fig. 6 Weights of lung cancer subcutaneous allografts and spleen and thymus of mice in various groups



A: CD3 on thymocytes; B: CD3 and CD19 on splenocytes; C: T cell subgroup in thymus; D: T cell subgroup in spleen.

图 7 各组荷瘤小鼠脾脏和胸腺中淋巴细胞表型百分率

Fig. 7 Percentages of lymphocyte phenotypes in spleen and thymus of tumor-bearing mice in various groups

胞凋亡的同时具有一定的免疫抑制作用。

信号转导和转录激活子 3（Signal Transducer and Activator of Transcription 3，STAT3）是 Janus 激酶（Janus Kinase，JAK）-STAT 信号通路中的核心信号分子，STAT3 的活化能够促进肿瘤细胞持续分裂和增殖[24]。JSI-124 作为 STAT3 抑制剂，能抑制包括 NSCLC 在内的多种肿瘤细胞增殖[10-14]，其中，ZHU 等[13]研究显示：JSI-124 在体外对

NSCLC细胞具有增殖抑制及诱导凋亡作用，故本文未单独进行上述研究。有研究[16-17]证实靶向YAP1和STAT3可协同抑制肿瘤进展，且NSCLC的发展与YAP1和STAT3双信号的活化有关[15]。本研究建立小鼠肺癌皮下移植瘤模型，设置对照组、CA3组、JSI-124组和CA3＋JSI-124组，结果显示：与对照组比较，CA3组、JSI-124组和CA3＋JSI-124组小鼠瘤质量均；且CA3＋JSI-124组小鼠瘤质量降低差异更为显著；与对照组比较，CA3组、JSI-124组和CA3＋JSI-124组小鼠脾脏质量和胸腺质量差异无统计学意义，提示在1 mg·kg^{-1}剂量下，CA3和JSI-124分别或联合使用对8～10周龄小鼠的脾脏和胸腺质量无影响。与对照组比较，CA3组、JSI-124组和CA3＋JSI-124组小鼠脾脏中T淋巴细胞、B淋巴细胞及胸腺中T淋巴细胞百分率差异无统计学意义，表明尽管在体外条件下有效抑瘤剂量的CA3对淋巴细胞有明显的抑制作用，但在体内的有效抑瘤浓度下，CA3和JSI-124联合用药不会对胸腺及脾脏内的T淋巴细胞以及B淋巴细胞产生影响。

综上所述，CA3联合JSI-124使用可明显抑制小鼠肺癌皮下移植瘤生长，且对成年小鼠中枢免疫器官、外周免疫器官及T淋巴细胞以及B淋巴细胞均无明显影响，而JSI-124与CA3的联合使用可能是抑制了以STAT3和YAP1信号通路为核心的协调性信号网络，进而发挥了协同抗肿瘤机制。

利益冲突声明：

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：

邓明星参与实验操作和论文撰写，马芳参与实验操作和数据收集，王光川参与实验设计和数据分析，于广参与研究设计和论文审阅，苗苗参与论文指导和审阅。

[参考文献]

[1] LEI Y M, LV G L, YANG Q M, et al. Microdroplet digital polymerase chain reaction for precision detection of non-small cell lung cancer mutations[J]. J Vis Exp, 2025(221): 1709-1717.

[2] DIXON S J, WINTER G E, MUSAVI L S, et al. Human haploid cell genetics reveals roles for lipid metabolism genes in nonapoptotic cell death[J]. ACS Chem Biol, 2015, 10(7): 1604-1609.

[3] HAN S, LIM J Y, CHO K, et al. Anti-cancer effects of YAP inhibitor (CA3) in combination with sorafenib against hepatocellular carcinoma (HCC) in patient-derived multicellular tumor spheroid models (MCTS)[J]. Cancers, 2022, 14(11): 2733.

[4] SONG S M, XIE M, SCOTT A W, et al. A novel YAP1 inhibitor targets CSC-enriched radiation-resistant cells and exerts strong antitumor activity in esophageal adenocarcinoma[J]. Mol Cancer Ther, 2018, 17(2): 443-454.

[5] ZHAO B, XIE J, ZHOU X Y, et al. YAP activation in melanoma contributes to anoikis resistance and metastasis[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2021, 246(8): 888-896.

[6] ZHOU H Y, TAN L C, ZHANG B F, et al. GPRC5A promotes lung colonization of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 9950.

[7] KANDASAMY S, ADHIKARY G, RORKE E A, et al. The YAP1 signaling inhibitors, verteporfin and CA3, suppress the mesothelioma cancer stem cell phenotype[J]. Mol Cancer Res, 2020, 18(3): 343-351.

[8] ZHOU Q M, BAUDEN M, ANDERSSON R, et al. YAP1 is an independent prognostic marker in pancreatic cancer and associated with extracellular matrix remodeling[J]. J Transl Med, 2020, 18(1): 77.

[9] LI H, CHEN H Y, LI R L, et al. Cucurbitacin Ⅰ induces cancer cell death through the endoplasmic reticulum stress pathway[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(2): 2391-2403.

[10] ZHONG L M, LIU Z G, ZHOU X, et al. Expansion of PMN-myeloid derived suppressor cells and their clinical relevance in patients with oral squamous cell carcinoma[J]. Oral Oncol, 2019, 95: 157-163.

[11] AL-HARBI B, ABOUSSEKHRA A. Cucurbitacin Ⅰ (JSI-124)-dependent inhibition of STAT3 permanently suppresses the pro-carcinogenic effects of active breast cancer-associated fibroblasts[J]. Mol Carcinog, 2021, 60(4): 242-251.

[12] ZHANG X C, ZHU M Y, HONG Z P, et al. Co-culturing polarized M2 Thp-1-derived macrophages enhance stemness of lung adenocarcinoma A549 cells[J]. Ann Transl Med, 2021, 9(8): 709.

[13] ZHU X Q, HUANG H, ZHANG J, et al. The anticancer effects of Cucurbitacin I inhibited cell growth of human non-small cell lung cancer through PI3K/AKT/p70S6K pathway[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(2): 2750-2756.

[14] LUO Y M, CUI Y H, CAO X C, et al. 8-Bromo-7-methoxychrysin-blocked STAT3/Twist axis inhibits the stemness of cancer stem cell-like cell originated from

SMMC-7721 cells [J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2017, 49(5): 458-464.
[15] CHAIB I, KARACHALIOU N, PILOTTO S, et al. Co-activation of STAT3 and YES-associated protein 1 (YAP1) pathway in EGFR-mutant NSCLC[J]. J Natl Cancer Inst, 2017, 109(9): djx014.
[16] CHANG Y T, PENG H Y, HU C M, et al. Pancreatic cancer-derived small extracellular vesical ezrin activates fibroblasts to exacerbate cancer metastasis through STAT3 and YAP-1 signaling pathways[J]. Mol Oncol, 2023, 17(8): 1628-1647.
[17] MAHBOOBNIA K, KABIR T D, HOU R, et al. microRNA-142-3p overcomes drug resistance in hepatocellular carcinoma by targeting YES1 and TWF1[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(9): 4161.
[18] NEFEDOVA Y, CHENG P Y, GILKES D, et al. Activation of dendritic cells *via* inhibition of Jak2/STAT3 signaling[J]. J Immunol, 2005, 175(7): 4338-4346.
[19] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 原发性肺癌诊疗指南(2022年版)[J]. 中国合理用药探索, 2022, 19(9): 1-28.
[20] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 中国肺癌筛查与早诊早治指南(2023版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2023, 45(4): 243-281.
[21] 栾 涛, 马康景, 孙君璐, 等. 晚期肺癌免疫治疗研究进展[J]. 中国实用内科杂志, 2025, 45(12): 1043-1048.
[22] 王思佳, 陈美霓, 刘 悦, 等. 肿瘤浸润性T淋巴细胞在乳腺癌中的作用及治疗策略[J]. 延安大学学报(医学科学版), 2025, 23(1): 85-90.
[23] 徐瑞娥, 曹雪如, 葛付超, 等. 外周血T淋巴细胞亚群及细胞因子与肺癌化疗后骨髓抑制的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2025, 17(8): 1585-1588.
[24] ZHANG C K, SUN Q F, ZHAO J F, et al. JSI-124 inhibits cell proliferation and tumor growth by inducing autophagy and apoptosis in murine malignant mesothelioma[J]. Mol Carcinog, 2023, 62(12): 1888-1901.