●论　著

川芎嗪调控AnxA5/MAPK/CD44信号通路抑制脑胶质瘤生成的作用研究

刘伟贤　麻江春　王明　李传传

【摘要】 **目的**　通过体外、体内实验探究川芎嗪(TMP)通过膜联蛋白A5(AnxA5)/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/CD44通路调控抑制脑胶质瘤的作用及机制。 **方法**　通过转染技术构建AnxA5低表达U87、U251细胞模型,细胞经TMP干预后,采用细胞计数试剂盒-8法、流式细胞术、划痕愈合实验、Transwell侵袭实验检测细胞活力、凋亡率及迁移、侵袭能力;内皮细胞血管形成实验评估人脐静脉内皮细胞血管生成能力;免疫荧光、酶联免疫吸附试验检测CD31、血管内皮细胞生长因子A(VEGFA)表达水平;蛋白质印迹法检测AnxA5/MAPK/CD44通路相关蛋白表达。BALB/c裸鼠皮下注射U87细胞构建脑胶质瘤皮下移植瘤裸鼠模型,待肿瘤体积约200 mm^3时给予TMP干预,测量肿瘤体积与质量,肿瘤组织行苏木精-伊红染色,免疫组织化学法检测CD31、VEGFA及Ki-67阳性表达。 **结果**　体外实验显示,TMP可明显降低U87和U251细胞活力,抑制细胞迁移与侵袭,促进细胞凋亡,减弱血管生成能力和降低CD31和VEGFA的表达水平,下调AnxA5/MAPK/CD44信号通路相关蛋白表达水平。体内实验表明,TMP可减小模型裸鼠的肿瘤体积和质量,加重肿瘤组织损伤。肿瘤组织中CD31、VEGFA及Ki-67表达均降低。此外,体外与体内实验均证实,敲低AnxA5基因后给予TMP,抗肿瘤效果进一步增强。 **结论**　TMP可能通过调控AnxA5/MAPK/CD44信号通路,降低U87和U251细胞活力,抑制其增殖等能力,促进细胞凋亡,降低血管生成能力,抑制裸鼠皮下移植脑胶质瘤生长。

【关键词】 川芎嗪;脑胶质瘤;膜联蛋白A5;丝裂原活化蛋白激酶;血管生成

Tetramethylpyrazine inhibits glioma formation by regulating AnxA5/MAPK/CD44 signaling pathway

Liu Weixian, Ma Jiangchun, Wang Ming, Li Chuanchuan

First-author's address: Department of Neurosurgery, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, China

Corresponding author: Li Chuanchuan, E-mail: lichuanchuan183@163.com

【Abstract】 **Objective**　To explore the role and underlying mechanism of tetramethylpyrazine (TMP) in suppressing glioma by regulating the annexin A5 (AnxA5)/mitogen-activated protein kinase (MAPK)/CD44 pathway through in vitro and in vivo experiments. **Methods**　U87 and U251 cell models with low AnxA5 expression were constructed by transfection technology. After TMP intervention, cell viability, apoptosis rate, migration, and invasion were detected by cell counting kit-8, flow cytometry, wound healing assay, and Transwell invasion assay, respectively. The endothelial cell tube formation assay was used to evaluate the angiogenesis ability of human umbilical vein endothelial cells. Immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assay were used to detect the expression levels of CD31 and vascular endothelial growth factor A (VEGFA). Western blotting was used to detect the expression of proteins related to the AnxA5/MAPK/CD44 pathway. A subcutaneous transplanted glioma tumor model in BALB/c nude mice was constructed by subcutaneous injection of U87 cells. When the tumor volume reached approximately 200 mm^3, TMP intervention was administered. Tumor volume and weight were measured. Tumor tissues were subjected to hematoxylin-eosin staining, and immunohistochemistry was used to detect the positive expression of CD31, VEGFA, and Ki-67. **Results**　In vitro experiments showed that TMP significantly reduced the viability, migration, and

DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2026.48.18.2025-1672

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2025ZL003)

作者单位:310013　杭州,浙江医院神经外科(刘伟贤、麻江春),神经介入科(王明),胸外科(李传传)

通信作者:李传传,E-mail:lichuanchuan183@163.com

invasion of U87 and U251 cells, promoted cell apoptosis, weakened angiogenesis ability, reduced the expression levels of CD31 and VEGFA, and down-regulated the expression of proteins related to the AnxA5/MAPK/CD44 signaling pathway. In vivo experiments demonstrated that TMP reduced the tumor volume and weight in model mice and aggravated tumor tissue damage. The expression of CD31, VEGFA, and Ki-67 in tumor tissues was decreased. In addition, both in vitro and in vivo experiments confirmed that TMP treatment following AnxA5 knockdown further enhanced the anti-tumor effect. **Conclusion** TMP may reduce the viability and inhibit the proliferation and other abilities of U87 and U251 cells, promote apoptosis, reduce angiogenesis ability, and inhibit the growth of subcutaneous transplanted gliomas in nude mice by regulating the AnxA5/MAPK/CD44 signaling pathway.

【 Key words 】 Tetramethylpyrazine; Brain glioma; Annexin A5; Mitogen-activated protein kinase; Angiogenesis

脑胶质瘤是最常见的原发性颅内肿瘤，约占原发性颅内肿瘤的35%~40%，其中星形细胞肿瘤占胶质瘤的70%~75%。星形细胞肿瘤中，既往研究多聚焦于侵袭性最高的胶质母细胞瘤（glioblastoma multiforme，GBM）[1-2]。GBM患者整体预后欠佳，替莫唑胺耐药仍是临床治疗的主要难题[3]。丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase，MAPK）信号通路的激活可促进GBM进展[4]。膜联蛋白A5（annexin A5，AnxA5）在GBM中高表达，参与肿瘤侵袭、耐药，提示不良预后[5]，且AnxA5与MAPK之间存在相互作用[6]，GBM标本中CD44表达水平明显升高[7]，提示抑制AnxA5/MAPK/CD44信号通路有望抑制GBM进展。川芎嗪（tetramethylpyrazine，TMP）可抑制神经胶质瘤细胞增殖、迁移及血管生成[8-9]，并可调控MAPK信号通路，发挥抗炎与血管保护作用[10]。基于此，本研究通过TMP干预GBM细胞系（U87、U251）及建立脑胶质瘤皮下移植瘤裸鼠模型，探讨TMP抗GBM作用及其相关分子机制，现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 人胶质瘤细胞U87、U251及人脐静脉内皮细胞（human umbilical vein endothelial cell，HUVEC）均购自上海赛百慷公司，批号：iCell-h224、iCell-h219、iCell-h110；U87和U251培养于含10%胎牛血清及1%双抗的DMEM培养基中，HUVEC培养于含10%胎牛血清+1%双抗的iCell原代内皮细胞基础培养基中。6~8周龄雌性BALB/c裸鼠购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[许可证号：SCXK（沪）2022-0004]，饲养于无特定病原体级环境中。TMP购自上海源叶生物科技有限公司；Lipofectamine™ 3000试剂购自Thermo Fisher科技有限公司，批号：2185325；阴性对照短发夹RNA（short hairpin RNA negative control，sh-NC）和靶向AnxA5基因shRNA购自苏州吉玛基因股份有限公司；抗人血管内皮细胞生长因子A（vascular endothelial growth factor A，VEGFA）、Alexa Fluor 488标记山羊抗兔免疫球蛋白（immunoglobulin，Ig）G二抗、Ki-67等用于免疫荧光的抗体购自英国Abcam公司，批号：63y4765、GR33763941-4、GR1015296-106；RNA提取试剂盒购自加拿大BBI公司，批号：I701KA5235；逆转录试剂盒及SYBR Green购自北京艾德莱生物科技有限公司，批号：351947AH、351940AX；异硫氰酸荧光素标记膜联蛋白V（annexin V-fluorescein isothiocyanate，Annexin V-FITC）与碘化丙啶（propidium iodide，PI）染料购自美国BD公司，批号：4039724；细胞计数试剂盒-8（cell counting kit-8，CCK8）、放射免疫沉淀法（radio immunoprecipitation assay，RIPA）裂解液均购自上海碧云天生物技术股份有限公司，批号：Z947241107、040323230524；4',6-二脒基-2-苯基吲哚染液购自德国Sigma公司，批号：097M4033v；基底膜基质胶Matrigel购自厦门基膜生物科技有限公司，批号：202311220AHH；酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司，批号：202503；细胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase，ERK）、辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记的抗兔IgG二抗购自美国CST公司；CD31、AnxA5、CD44、VEGFA、磷酸化ERK（phosphorylated ERK，p-ERK）、c-Jun氨基末端激酶（c-Jun N-terminal kinase，JNK）、磷酸化JNK（phosphorylated JNK，p-JNK）、p38蛋白（p38）和磷酸化p38（phosphorylated p38，p-p38）购自英国Affinity公司，批号：40P8805、13n5126、42c8350、AF5131、36q5134、25f0372、22k3759、30a9327、43d0183；β-肌动蛋白（β-actin）和甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）均购自美国Proteintech公司，批号：23005135、00136585。酶标仪购自美国MD公司，型号：SpectraMax ABS；流式细胞仪购自美国安捷伦公司，型号：NovoCyte。本研究经杭州环特优检生物科技有限公司实验动物福利与伦理审查委员会审查通过

（批准文号：IACUC/HTYJ-8201-40）。

1.2 方法

1.2.1 细胞转染与分组 采用Lipofectamine™ 3000试剂，将靶向AnxA5的shRNA（AnxA5-Homo-406）及阴性对照shRNA（sh-NC）分别转染至U87、U251细胞。靶向AnxA5干扰序列与阴性对照序列分别为5'-AT-GAAACCCTCTCGGCTTTAT-3'和5'-UUCUCCGAACG-UGUCACGUTT-3'。转染完成后，将两种细胞分别分为5组：（1）对照（Control）：不作任何处理；（2）TMP：未转染细胞给予TMP干预；（3）sh-NC：转染阴性对照基因序列；（4）sh-AnxA5：转染靶向AnxA5的shRNA干扰序列；（5）sh-AnxA5+TMP：转染靶向AnxA5 shRNA序列后给予TMP干预。各组细胞处理48 h后收集样本，开展后续检测。

1.2.2 细胞活力检测 采用CCK-8法。将分组处理后的细胞接种于96孔板，贴壁过夜后，分别加入不同浓度TMP（0、6.25、12.5、25、50、100、200、400、600、800 μmol/L）处理24 h，比较不同浓度对细胞活力的影响。另设时间依赖性实验，给予细胞相应处理0、24、48、72 h，检测作用时间对细胞活力的影响。CCK-8法检测时，每孔加入10 μL CCK-8溶液，与细胞共孵育2 h，使用酶标仪于450 nm波长处测定吸光度，评估细胞活力。

1.2.3 细胞凋亡率检测 采用流式细胞术。收集各组细胞，磷酸盐缓冲液（phosphate buffered saline，PBS）洗涤并重悬，加入Annexin V-FITC与PI染料，避光孵育。于30 min内采用流式细胞仪检测并计算细胞凋亡率。

1.2.4 细胞迁移能力评估 采用划痕愈合实验。待细胞长成单层后进行划痕，PBS清洗后更换无血清培养基继续培养。分别于0、24、48 h在显微镜下拍照，使用ImageJ软件计算划痕愈合率。

1.2.5 细胞侵袭能力评估 采用Transwell侵袭实验。以Matrigel（稀释比例3∶1）包被Transwell小室。细胞培养24 h后，移除上室细胞，对穿过膜的下室细胞行固定、结晶紫染色，计数侵袭至下室的细胞数量。本实验独立重复3次。

1.2.6 内皮细胞血管形成实验 HUVEC细胞按前述分组处理后，接种于Matrigel包被的96孔板中，接种密度为每孔3.5×10^4个细胞。培养4 h后，对形成的管腔结构进行图像采集，采用ImageJ软件统计管腔数量与管腔总长度。

1.2.7 CD31和VEGFA蛋白表达水平评估 采用免疫荧光染色。药物处理后的细胞经4%多聚甲醛固定、0.5%Triton X-100透化，封闭后依次加入一抗（4 ℃过夜孵育）、二抗（室温孵育1 h）。4',6-二脒基-2-苯基吲哚染核，荧光显微镜下观察并采集图像，使用ImageJ软件分析平均荧光强度，评估CD31、VEGFA蛋白表达水平。

1.2.8 VEGFA浓度检测 采用ELISA试剂盒，根据说明书步骤于450 nm波长处测定U87、U251细胞上清液中VEGFA的吸光度，计算浓度。

1.2.9 AnxA5/MAPK/CD44信号通路相关蛋白表达水平检测 采用蛋白质印迹法检测AnxA5/MAPK/CD44信号通路相关蛋白（AnxA5、CD44、VEGFA、p-ERK、ERK、p-JNK、JNK、p-p38、p38）的表达。预冷PBS洗涤细胞后，加入RIPA裂解液裂解20 min，离心收集上清液，进行蛋白定量与变性处理。蛋白样品经电泳分离，转至聚偏氟乙烯转印膜；封闭完成后，加入一抗4 ℃孵育过夜。次日加入二抗室温孵育。最后采集蛋白条带图像，使用Image J软件完成条带灰度分析。

1.2.10 脑胶质瘤皮下移植瘤裸鼠模型的建立 将裸鼠随机分为Control、TMP、sh-NC、sh-AnxA5和sh-AnxA5+TMP共5组，每组6只。各组裸鼠皮下接种浓度为2×10^5个/mL、经不同基因干预的U87细胞。待移植瘤体积生长至约200 mm^3时，TMP与sh-AnxA5+TMP腹腔注射TMP（100 mg/kg，每2 d 1次），其余组注射0.9%氯化钠注射液，连续干预4周。

1.2.11 裸鼠脑胶质瘤病理形态观察 采用苏木精-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色。二氧化碳吸入法安乐死裸鼠后，剥离裸鼠皮下瘤组织，经4%多聚甲醛固定、石蜡包埋，制为4 μm切片，经常规脱蜡、水化后进行HE染色，依次脱水、透明、封片，最后于光学显微镜下观察组织形态并拍照。

1.2.12 裸鼠脑胶质瘤组织中CD31、VEGFA和Ki-67的表达情况 采用免疫组织化学染色。裸鼠皮下瘤组织切片经抗原修复及封闭后，一抗4 ℃孵育过夜，HRP标记二抗37 ℃孵育1 h，3,3'-二氨基联苯胺显色、苏木素复染，脱水透明后封片。光学显微镜下随机选取5个视野拍照采集图像并计数，采用IPP 6.0图像分析系统进行分析。测定CD31及VEGFA的积分光密度与阳性染色总面积，以积分光密度/阳性染色总面积计算得到平均光密度作为半定量指标；统计Ki-67阳性细胞个数。

1.3 统计学处理 采用SPSS 20.0统计软件。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用Tukey法。$P<0.05$为差异有统计学意义。

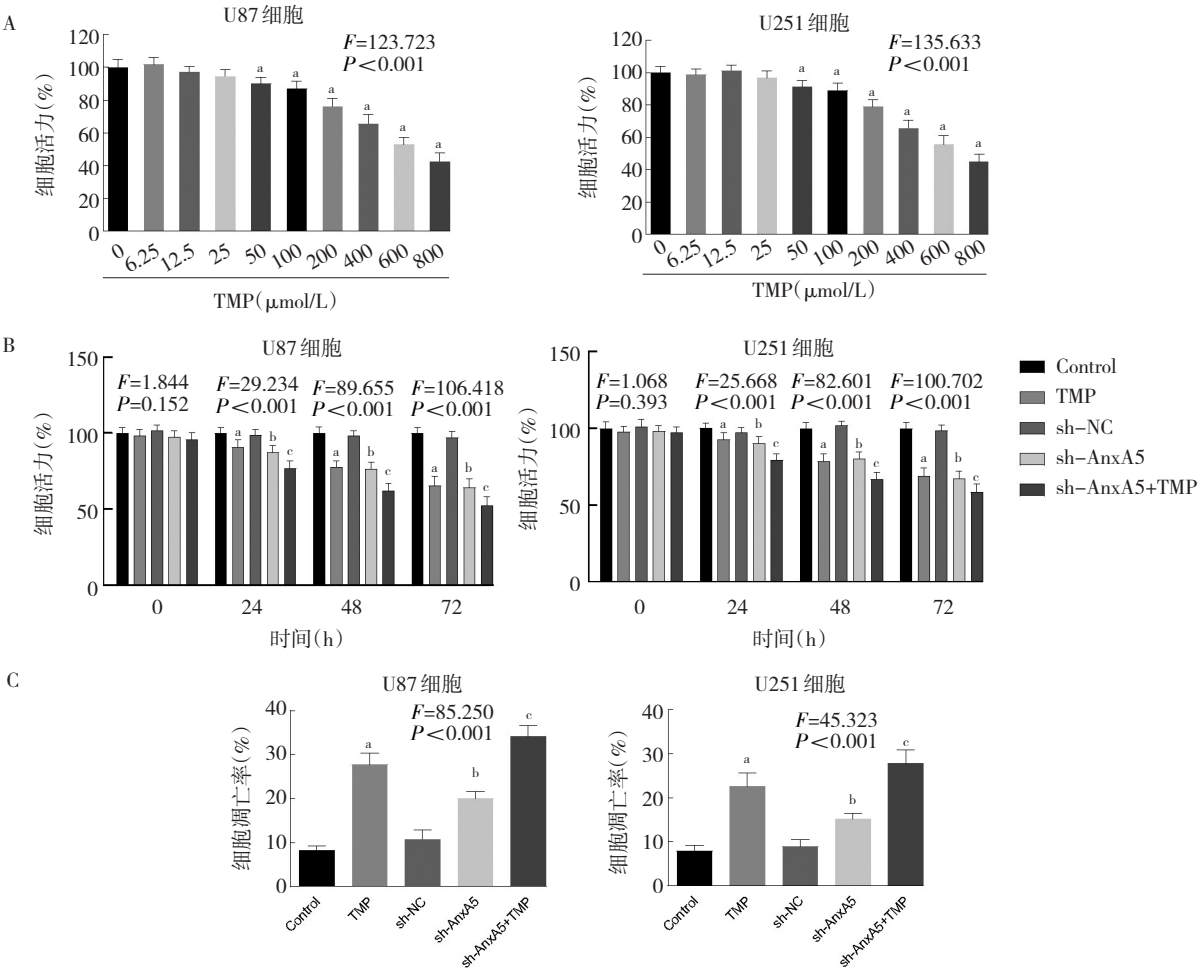
2 结果

2.1 TMP对U87、U251细胞活力和凋亡的影响 CCK-

8结果显示，不同浓度TMP下U87、U251细胞活力比较差异均有统计学意义（均$P<0.05$）；当TMP浓度为50~800 μmol/L时，U87、U251细胞活力均低于0 μmol/L（均$P<0.05$），且细胞活力随浓度增加呈持续下降趋势，见图1A。U87、U251细胞活力在24、48、72 h的组间差异均有统计学意义（均$P<0.05$）。24、48、72 h时，TMP细胞活力均低于Control，sh-AnxA5细胞活力均低于sh-NC，sh-AnxA5+TMP细胞活力均低于sh-AnxA5，差异均有统计学意义（均$P<0.05$），见图1B。流式细胞术结果显示，5组U87、U251细胞凋亡率比较差异均有统计学意义（均$P<0.05$）。TMP凋亡率均高于Control，sh-AnxA5均高于sh-NC，sh-AnxA5+TMP均高于sh-AnxA5，差异均有统计学意义（均$P<0.05$），见图1C。

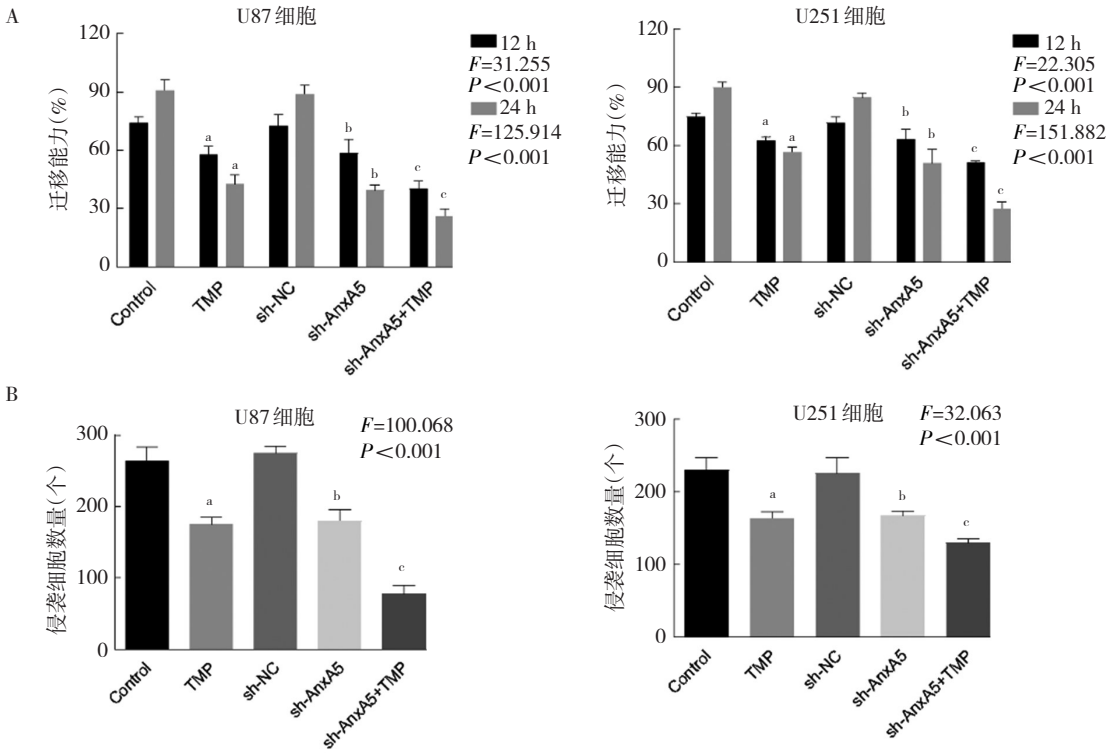
2.2　TMP对U87、U251细胞迁移和侵袭的影响　细胞划痕与Transwell实验结果显示，5组U87、U251细胞的12 h、24 h迁移与侵袭能力比较差异均有统计学意义（均$P<0.05$）。TMP U87、U251细胞的12 h、24 h迁移与侵袭能力均低于Control，sh-AnxA5均低于sh-NC，sh-AnxA5+TMP均低于sh-AnxA5，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见图2。

2.3　TMP对脑胶质瘤血管生成标志物（CD31、VEGFA）的影响　免疫荧光检测结果显示，TMP U87、U251细胞中脑胶质瘤血管生成标志物荧光强度均弱于Control，sh-AnxA5均弱于sh-NC，sh-AnxA5+TMP均弱于sh-AnxA5，差异均有统计学意义（均$P<0.05$），见图3A。血管形成实验结果显示，TMP HUVEC细胞成管数量、管腔长度均低于Control，sh-AnxA5均低于sh-NC，sh-AnxA5+TMP均低于sh-NC，差异均有统计学意义（均$P<0.05$），见图3B。ELISA检测结果显示，TMP U87、



注：Control为对照；TMP为川芎嗪；sh为短发夹RNA；NC为阴性对照；AnxA5为膜联蛋白A5；与Control或0 μmol/L比较，$^aP<0.05$；与sh-NC比较，$^bP<0.05$；与sh-AnxA5比较，$^cP<0.05$。

图1　TMP对U87、U251细胞活力和凋亡的影响（A：不同浓度TMP对U87、U251细胞活力的影响；B：TMP作用不同时间U87、U251细胞活力比较；C：5组U87、U251细胞凋亡率比较）



注：Control为对照；TMP为川芎嗪；sh为短发夹RNA；NC为阴性对照；AnxA5为膜联蛋白A5；与Control比较，$^{a}P<0.05$；与sh-NC比较，$^{b}P<0.05$；与sh-AnxA5比较，$^{c}P<0.05$。

图2 TMP对U87、U251细胞迁移和侵袭的影响（A：5组U87、U251细胞迁移能力比较；B：5组U87、U251细胞侵袭能力比较）

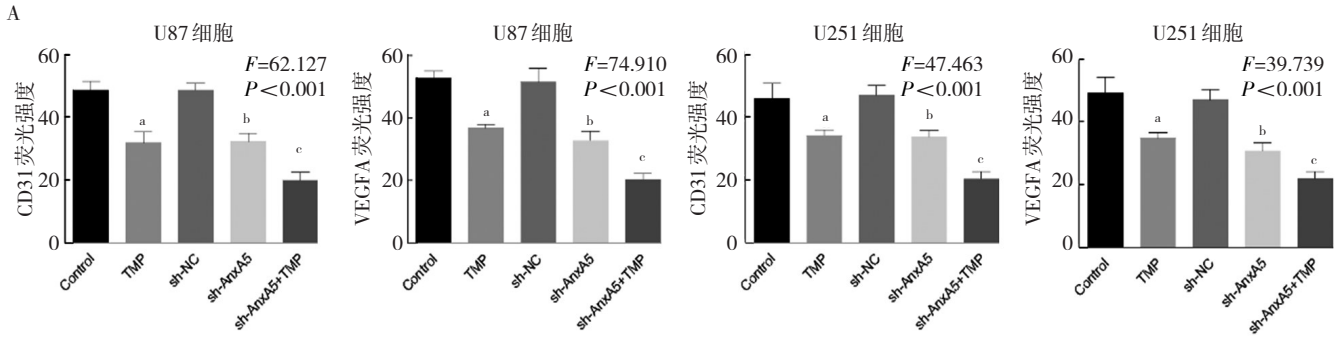
U251细胞上清VEGFA浓度均低于Control，sh-AnxA5均低于sh-NC，TMP+sh-AnxA5均低于sh-AnxA5，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见图3C。

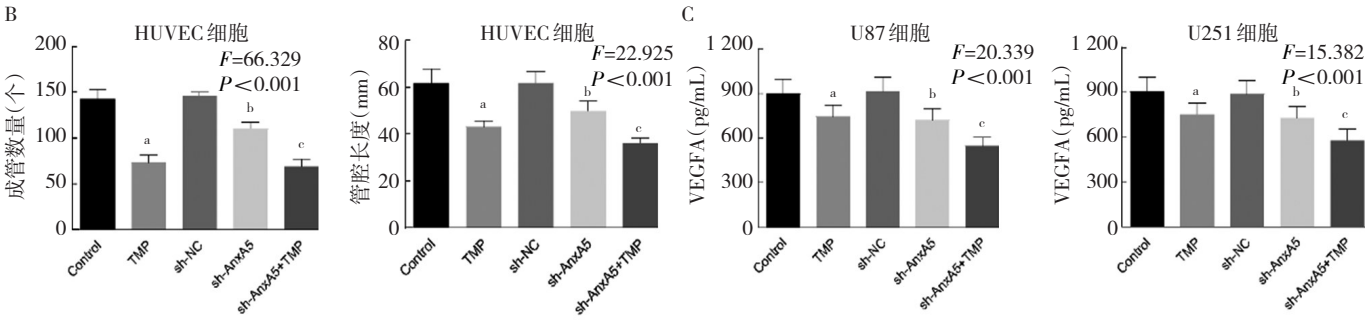
2.4 TMP对U87、U251细胞中AnxA5/MAPK/CD44信号通路相关蛋白的影响 蛋白质印迹法检测结果显示，AnxA5、CD44、VEGFA、p-ERK、ERK、p-JNK、JNK和p-p38、p38蛋白相对表达水平，TMP U87、U251细胞中均低于Control，sh-AnxA5均低于sh-NC，sh-AnxA5+TMP除AnxA5外均低于sh-AnxA5，差异均有统计学意义（均$P<0.05$），见图4。

2.5 TMP对脑胶质瘤原位荷瘤裸鼠的影响 体内实验表明，从第10天起，TMP裸鼠肿瘤体积、质量均小于Control，sh-AnxA5均小于sh-NC，sh-AnxA5+TMP均小于sh-AnxA5，差异均有统计学意义（均$P<0.05$），见图5A、B。HE染色结果表明，Control肿瘤组织正常，TMP与sh-AnxA5出现严重损伤及核固缩，sh-AnxA5+TMP损伤最重，见图6（插页18-1）。免疫组织化学结果显示，TMP、sh-AnxA5肿瘤组织中CD31、VEGFA表达水平及Ki-67阳性细胞数明显低于Control，sh-AnxA5低于sh-NC，sh-AnxA5+TMP低于sh-AnxA5，差异均有统计学意义（均$P<0.05$），见图5C。

3 讨论

脑胶质瘤恶性程度高、治疗难度大，亟待发掘新的





注：Control为对照；TMP为川芎嗪；sh为短发夹RNA；NC为阴性对照；AnxA5为膜联蛋白A5；VEGFA为血管内皮生长因子A；HUVEC细胞为人脐静脉内皮细胞；与Control比较，$^{a}P<0.05$；与sh-NC比较，$^{b}P<0.05$；与sh-AnxA5比较，$^{c}P<0.05$。

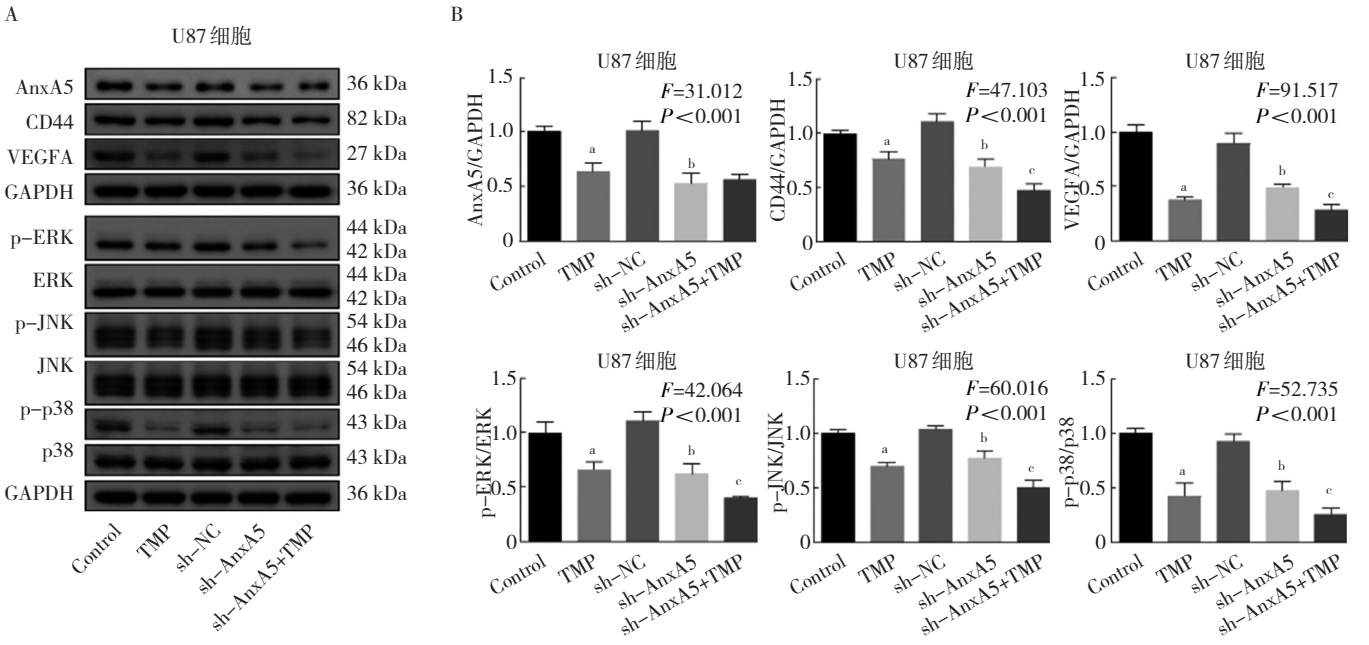
图3 TMP对U87、U251细胞中脑胶质瘤血管生成标志物的影响（A：U87、U251细胞中CD31、VEGFA免疫荧光定量比较；B：HUVEC细胞成管数量、管腔长度比较；C：U87、U251细胞上清VEGFA浓度比较）

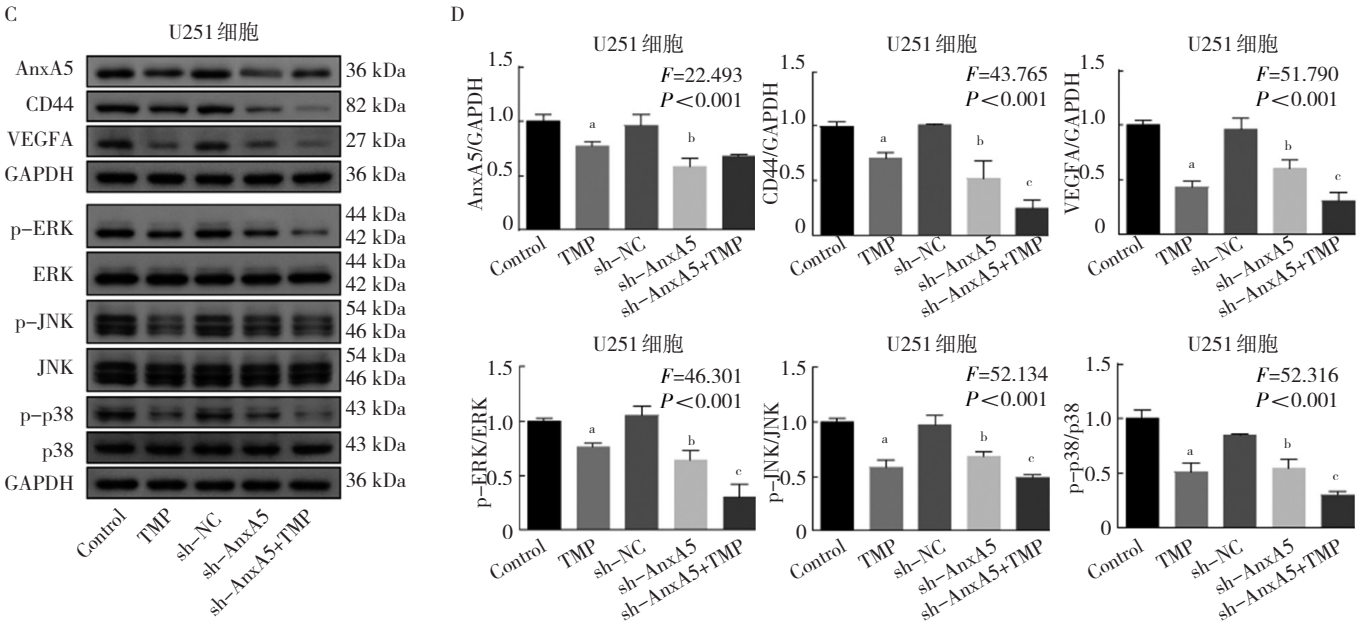
治疗靶点与药物。AnxA5在胶质瘤中高表达且与分级正相关，而在正常脑中呈低表达[11]。基于此，本研究通过干扰AnxA5，探讨TMP对胶质瘤的体内外抗肿瘤效果。

AnxA5是调控肿瘤细胞恶性行为的关键蛋白[12]。本研究证实，敲低AnxA5可增强TMP对胶质瘤细胞增殖、迁移、侵袭的抑制及促凋亡作用。肿瘤的生长与转移依赖新生血管生成，CD31和VEGFA是关键调控因子[13]；高级别胶质瘤中CD31表达增加且与VEGFA高表达相关[14]。本研究发现，TMP降低体内外模型中CD31、VEGFA蛋白表达及细胞上清VEGFA水平，并减弱HUVEC血管生成能力；敲低AnxA5后上述抑制作用进一步增强。这表明TMP通过抑制增殖、迁移、侵袭、促进凋亡及抑制血管生成发挥抗胶质瘤作用。

AnxA5可能通过调控MAPK通路参与脑胶质瘤发生、发展，MAPK通路是细胞内关键信号轴，其抑制可产生抗肿瘤效应[15-16]。CD44是一种跨膜糖蛋白[17]，其下调可抑制胶质瘤血管生成和生长[18]。本研究发现，敲低AnxA5后，TMP进一步下调AnxA5、CD44、VEGFA蛋白表达，并抑制MAPK通路相关蛋白（ERK、JNK、p38蛋白）磷酸化，与既往报道一致[19]。上述结果提示，TMP可能通过抑制AnxA5介导的MAPK/CD44信号通路发挥抗胶质瘤作用。体内实验中，TMP明显减小肿瘤体积、降低肿瘤质量，并加剧肿瘤组织病理损伤。免疫组织化学结果显示TMP能明显减少细胞增殖相关核抗原Ki-67阳性细胞数，进一步证实其体内抗肿瘤作用。

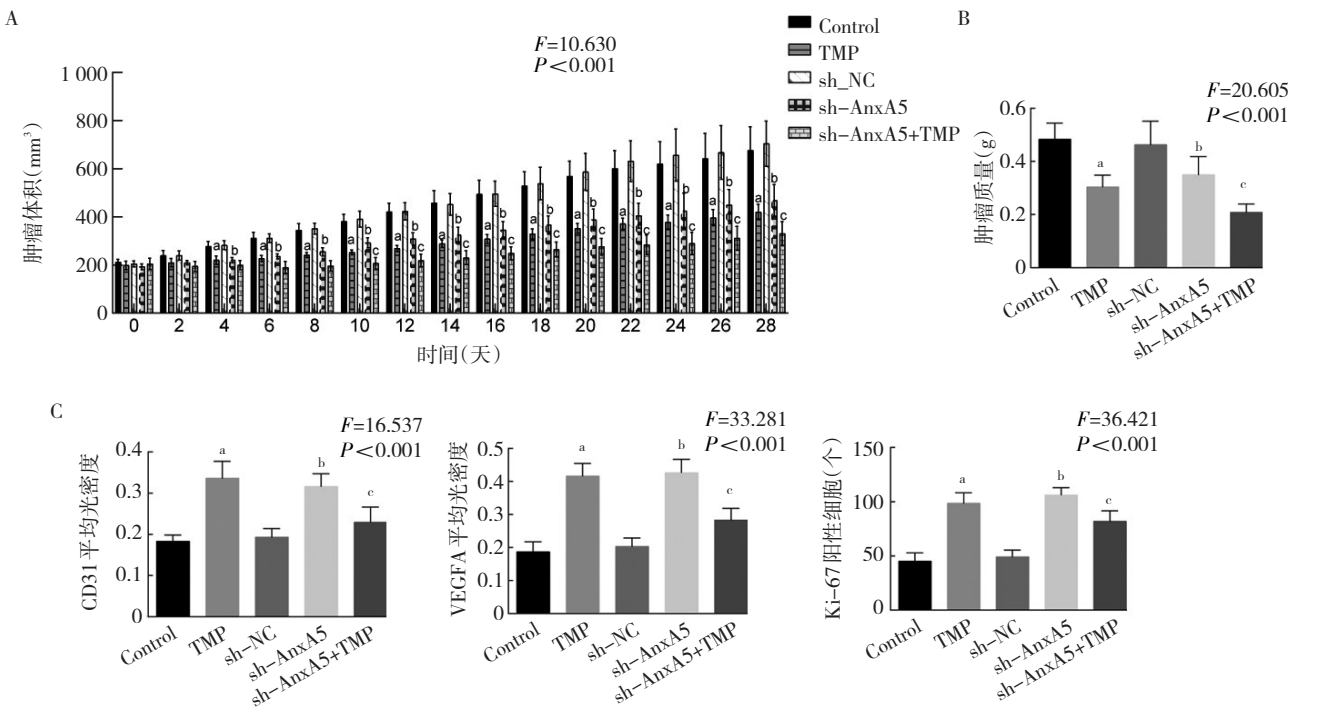
综上，AnxA5促进脑胶质瘤发生、发展，TMP通过抑制AnxA5/MAPK/CD44信号通路发挥抗肿瘤作用，且与抑制AnxA5表达具有协同效应。本研究为脑胶质瘤治





注：Control为对照；TMP为川芎嗪；AnxA5为膜联蛋白A5；sh为短发夹RNA；NC为阴性对照；VEGFA为血管内皮生长因子A；ERK为细胞外信号调节激酶；p-ERK为磷酸化ERK；JNK为C-Jun氨基末端激酶；p-JNK为磷酸化JNK；GAPDH为甘油醛-3-磷酸脱氢酶；与Control比较，$^{a}P<0.05$；与sh-NC比较，$^{b}P<0.05$；与sh-AnxA5比较，$^{c}P<0.05$。

图4 TMP对U87、U251细胞中AnxA5-MAPK/CD44信号通路相关蛋白的影响（A：U87细胞蛋白表达电泳图；B：U87细胞蛋白相对表达水平比较；C：U251细胞蛋白表达电泳图；D：U251细胞蛋白相对表达水平比较）



注：Control为对照；TMP为川芎嗪；sh-为短发夹RNA；NC为阴性对照；VEGFA为血管内皮生长因子A；与Control比较，$^{a}P<0.05$；与sh-NC比较，$^{b}P<0.05$；与sh-AnxA5比较，$^{c}P<0.05$。

图5 TMP对脑胶质瘤原位荷瘤裸鼠的影响（A：裸鼠肿瘤体积变化；B：裸鼠肿瘤质量变化；C：裸鼠肿瘤组织中CD31、VEGFA和Ki-67表达水平比较）

疗提供了新靶点和潜在方案，但仍需进一步研究完善和验证。

4 参考文献

[1] Allison BR, Shelly G, Ariel ZDL, et al. Glioblastoma multiforme: navigating treatment, recent breakthroughs and therapies[J]. Discov Med, 2025, 37(200):1721–1744. DOI:10.24976/Discov.Med.202537200.150.

[2] Sara Sadat A, Rada A. Glioblastoma stem cells: MAP17 as a novel predictive biomarker and therapeutic target associated with quiescence and immune evasion[J]. Discov Med, 2025, 37(192):166–181. DOI:10.24976/Discov.Med.202537192.14.

[3] Tomar MS, Kumar A, Srivastava C, et al. Elucidating the mechanisms of Temozolomide resistance in gliomas and the strategies to overcome the resistance[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2021, 1876(2):188616. DOI:10.1016/j.bbcan.2021.188616.

[4] Fei X, Dou YN, Sun K, et al. TRIM22 promotes the proliferation of glioblastoma cells by activating MAPK signaling and accelerating the degradation of Raf–1[J]. Exp Mol Med, 2023, 55(6):1203–1217. DOI:10.1038/s12276–023–01007–y.

[5] Zhang H, Zhang Z, Guo T, et al. Annexin A protein family: focusing on the occurrence, progression and treatment of cancer [J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11:1141331. DOI:10.3389/fcell.2023.1141331.

[6] Xiang C, Liao Y, Chen Z, et al. Network pharmacology and molecular docking to elucidate the potential mechanism of ligusticum chuanxiong against osteoarthritis[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 854215. DOI:10.3389/fphar.2022.854215.

[7] Mahinfar P, Mokhtarzadeh A, Baradaran B, et al. Antiproliferative activity of CD44 siRNA–PEI–PEG nanoparticles in glioblastoma: involvement of AKT signaling[J]. Res Pharm Sci, 2022, 17(1):78–85. DOI:10.4103/1735–5362.329928.

[8] Yu K, Chen Z, Pan X, et al. Tetramethylpyrazine–mediated suppression of C6 gliomas involves inhibition of chemokine receptor CXCR4 expression[J]. Oncol Rep, 2012, 28(3):955– 960. DOI:10.3892/or.2012.1866.

[9] Yang S, Wu S, Dai W, et al. Tetramethylpyrazine: a review of its antitumor potential and mechanisms[J]. Front Pharmacol, 2021, 12:764331. DOI:10.3389/fphar.2021.764331.

[10] Zhang H, Tang W, Wang S, et al. Tetramethylpyrazine inhibits platelet adhesion and inflammatory response in vascular endothelial cells by inhibiting P38 MAPK and NF–κB signaling pathways[J]. Inflammation, 2020, 43(1):286–297. DOI:10.1007/s10753–019–01119–6.

[11] 李传坤, 梁鹏, 王伟, 等. 膜联蛋白A5对胶质瘤细胞侵袭和迁移的调节作用及机制[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2021, 42(2):272–279. DOI:10.7652/jdyxb202102018.

[12] Peng B, Guo C, Guan H, et al. Annexin A5 as a potential marker in tumors[J]. Clin Chim Acta, 2014, 427:42– 48. DOI:10.1016/j.cca.2013.09.048.

[13] Schlüter A, Weller P, Kanaan O, et al. CD31 and VEGF are prognostic biomarkers in early–stage, but not in late–stage, laryngeal squamous cell carcinoma[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1):272. DOI:10.1186/s12885–018–4180–5.

[14] 王建祯, 浦佩玉, 黄强. 人脑胶质瘤血管内皮生长因子和血小板内皮细胞粘附分子表达及其意义[J]. 脑与神经疾病杂志, 2007, (1):16–18. DOI:10.3969/j.issn.1006–351X.2007.01.006.

[15] Gao Z, Yang J. GAD1 ameliorates glioma progression through regulating cuproptosis via RAS/MAPK pathway[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2024, 38(10):e23848. DOI:10.1002/jbt.23848.

[16] Feng YY, Jin X, Pan MX, et al. LRP5 enhances glioma cell proliferation by modulating the MAPK/p53/cdc2 pathway[J]. Int J Med Sci, 2025, 22(4):990–1001. DOI:10.7150/ijms.99920.

[17] Zhang H, Cao H, Luo H, et al. RUNX1/CD44 axis regulates the proliferation, migration, and immunotherapy of gliomas: a single–cell sequencing analysis[J]. Front Immunol, 2023, 14:1086280. DOI:10.3389/fimmu.2023.1086280.

[18] Yeh M, Wang YY, Yoo JY, et al. MicroRNA–138 suppresses glioblastoma proliferation through downregulation of CD44[J]. Sci Rep, 2021, 11(1):9219. DOI:10.1038/s41598–021–88615–8.

[19] Liu J, Wang L, Li X. HMGB3 promotes the proliferation and metastasis of glioblastoma and is negatively regulated by miR– 200b– 3p and miR– 200c– 3p[J]. Cell Biochem Funct, 2018, 36(7):357–365. DOI:10.1002/cbf.3355.

（收稿日期：2025–09–05）

（本文编辑：聂超颖）