

基于 TGF- β 1/Smad 信号通路探讨没食子酸对肝癌荷瘤小鼠肿瘤免疫逃逸的影响

董长虹¹, 张学习¹, 管伟², 孙象军^{1*}

(1. 广州中医药大学临沂市人民医院研究生培养基地, 山东 临沂 276000; 2. 临沂市人民医院, 山东 临沂 276000)

摘要: **目的** 探讨没食子酸对肝癌荷瘤小鼠肿瘤免疫逃逸的影响。**方法** 采用不同浓度 (0、3.125、6.250、15.500 $\mu\text{mol/L}$) 没食子酸处理人肝癌细胞系 HepG2 及 MHCC97H, CCK-8 法检测 24、48 h 肝癌细胞增殖情况, Annexin V-FITC/PI 试剂盒检测肝癌细胞凋亡情况。40 只小鼠皮下接种 HepG2 细胞 (4×10^5 /只) 建立肝癌荷瘤小鼠模型, 随机分为空白对照组、阳性对照组 (环磷酰胺, 0.5 mL/kg) 及没食子酸低、高剂量组 (50、200 mg/kg), 空白对照组给予等量生理盐水, 各给药组给予相应剂量药物, 每天 1 次, 连续 28 d。计算肿瘤体积和肿瘤抑制率, HE 染色法观察肝癌组织病理形态, ELISA 法检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-10 (IL-10) 及肿瘤标志物糖类抗原 125 (CA125)、癌胚抗原 (CEA) 水平, Western blot 法检测 TGF- β 1、Smad3、Caspase-3、Bcl-2 蛋白表达。**结果** 没食子酸能抑制肝癌细胞增殖, 减少凋亡, 呈剂量依赖性。空白对照组肝癌细胞形态不规则, 核增大, 病理性核分裂及炎性浸润明显; 没食子酸低剂量组出现异型增生及炎性浸润; 没食子酸高剂量及阳性对照组细胞异型增生减弱, 炎症浸润减少。与空白对照组比较, 各给药组小鼠肿瘤体积和质量均减少 ($P < 0.05$), 血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-10、CA125、CEA 水平降低 ($P < 0.05$), 肝癌组织 TGF- β 1、Smad3、Caspase-3 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), Bcl-2 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)。**结论** 没食子酸能够降低肝癌荷瘤小鼠血清炎症因子、肿瘤标志物水平, 其可能通过调控 TGF- β 1/Smad 信号通路来抑制肝癌进展。

关键词: 没食子酸; 肝癌; 肿瘤免疫逃逸; TGF- β 1/Smad 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)06-2008-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.06.037

肝癌是由病毒性肝炎、肝硬化、黄曲霉素、酗酒等引起的、发生在肝脏部位的恶性肿瘤, 具有高发病率和致死率的特点^[1]。目前, 肝癌是全球癌症相关死亡的第二大原因^[2], 70%~90%的原发性肝癌患者被诊断为肝细胞癌^[3]。近年来, 肝切除、化疗、免疫治疗、靶向治疗等方法在临床得到广泛应用, 且疗效显著, 但肝癌早期症状隐匿、恶性程度较高, 病情发展迅速。因此, 仍有部分患者确诊时处于中晚期并发生转移, 生存时间不理想, 预后较差^[4-5]。所以, 研发疗效好、毒副作用小的中药对肝癌治疗具有重要意义。没食子酸是一种有机酸, 常见于五倍子、漆树、绿茶、葡萄等植物中, 是一种天然植物多酚化合物, 具有抗菌、抗病毒及抗肿瘤作用^[6]。已有研究证实, 没食子酸在多种癌症中表现出显著的抗肿瘤作用, 可抑制癌细胞转移, 延长患者的生存期^[7-9]。然而, 没食子酸对肝癌的影响鲜有报道, 故本研究旨在探讨没食子酸调控 TGF- β 1/Smad 信号通路影响肝癌荷瘤小鼠肿瘤免疫逃逸的机制。

1 材料

1.1 细胞与动物 人肝癌细胞系 HepG2 (中科院上海细胞库); 人肝癌细胞系 MHCC97H (美国 ATCC 细胞库)。雄性 C57BL/6 小鼠, 8~10 周龄, 体质量 21~25 g, 购自上海南方模式生物科技股份有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2019-0002], 饲养环境温度 20~24 $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 50%~70%, 12 h 光照/黑暗周期交替, 自由饮食饮水, 适应性喂养 7 d。实验经临沂市人民医院医学伦理委员会审批通过 (伦理号 L2023052)。

1.2 药物与试剂 没食子酸 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 C17D10C105977, 纯度 $\geq 98\%$); 胎牛血清 (澳大利亚 Bovogen 公司, 批号 C04001); 双抗溶液 (美国 HyClone 公司, 批号 SV30010); DMEM 完全培养基 (批号 20210619)、HE 染色试剂盒 (货号 G1120) (北京索莱宝科技有限公司); 胰蛋白酶 (美国 Promega 公司, 批号 0000490995); 戊巴比妥钠 [西格玛奥德里奇 (无锡) 生

收稿日期: 2024-12-26

基金项目: 山东省自然科学基金项目 (ZR2020QH041)

作者简介: 董长虹 (1987—), 女, 硕士, 主治医师, 从事中西医结合临床研究。Tel: 13721992025, E-mail: 13721992025@163.com

* **通信作者:** 孙象军 (1965—), 男, 博士, 主任医师, 从事中西医结合治疗肝胆疾病的研究。Tel: 13583950282, E-mail: sunxiangjun552@163.com

化科技有限公司, 批号 P3761]; 4% 多聚甲醛 (合肥白鲨生物科技有限公司, 批号 BL539A); 二甲苯 (上海国药集团化学试剂有限公司, 批号 10023418); 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-10 (IL-10) ELISA 试剂盒 (江苏酶免实业有限公司, 批号 230714204R、230714229R、230714225R); 糖类抗原 125 (CA125)、癌胚抗原 (CEA) (武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 批号 E-EL-H0636c、E-EL-M0232c); 兔抗人转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) (上海浩洋生物科技有限公司, 批号 JM-4342-5); 兔抗人 Smad 同源物 3 (Smad3) (英国 Abcam 公司, 批号 151104); 兔抗人 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2, 武汉博士德生物工程有限公司, 批号 A00040-1); 兔抗人半胱天冬酶-3 (Caspase-3, 美国 Santa Cruz 公司, 批号 sc-1925)。

1.3 仪器 BD-SW4001 光学显微镜 (深圳市博视达光学仪器有限公司); ECL 化学发光成像系统 (美国 Milipore 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 肝癌细胞 HepG2、MHCC97H 置于含有 10% 胎牛血清和 1% 双抗溶液的 DMEM 完全培养基中, 于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 及饱和湿度细胞培养箱中培养。

2.2 CCK-8 法检测肝癌细胞增殖情况 将 HepG2、MHCC97H 细胞接种于 96 孔板中, 5 \times 10³ 个/孔, 贴壁后加入不同浓度 (0、3.125、6.250、15.500 μ mol/L) 没食子酸, 孵育 24、48 h 后, 加入 CCK-8 试剂 (10 μ L/孔) 孵育 3 h, 450 nm 波长处测量光密度 (OD), 并计算细胞增殖抑制率, 公式为细胞增殖抑制率 = [(OD_{对照} - OD_{实验}) / (OD_{对照} - OD_{空白})] \times 100%。实验重复 3 次。

2.3 Annexin V-FITC/PI 试剂盒检测肝癌细胞凋亡情况 将对数生长期的肝癌细胞 HepG2、MHCC97H 用胰酶消化, 调整细胞密度为 5 \times 10⁵/mL, 接种于 6 孔板, 每孔 1 mL, 培养 24 h, 更换含不同浓度 (0、3.125、6.250、15.500 μ mol/L) 没食子酸的培养基, 培养 24 h, PBS 洗涤 2 次, 收集细胞, 加入 500 μ L Binding Buffer 悬浮细胞, 再加入 5 μ L Annexin V-FITC 混合, 加 5 μ L PI 混匀, 避光, 室温染色 15 min, 流式细胞仪检测凋亡率。

2.4 动物造模、分组及给药 40 只雄性 C57BL/6 小鼠皮下接种 HepG2 细胞 (4 \times 10⁵ 个/只) 建立荷瘤小鼠模型, 按随机数字表法分为空白对照组、阳性对照组及没食子酸低、高剂量组, 空白对照组腹腔注射给予生理盐水 (0.5

mL/kg), 没食子酸低、高剂量组灌胃给予没食子酸 (50、200 mg/kg), 阳性对照组腹腔注射给予环磷酰胺注射液 (0.5 mL/kg), 每天 1 次, 连续 28 d。

2.5 肿瘤质量、体积及抑制率测定 采集外周血后, 小鼠经腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 麻醉后断头处死, 分离肿瘤组织, 测量其最长径、最短径, 计算肿瘤体积, 公式为肿瘤体积 = (最长径 \times 最短径²) / 2, 称定质量, 计算肿瘤抑制率, 公式为肿瘤抑制率 = (1 - 药物干预组平均肿瘤质量 / 空白对照组平均肿瘤质量) \times 100%。

2.6 HE 染色法观察肿瘤组织病理形态 取肿瘤组织, 4% 多聚甲醛固定 12 h, 依次放入不同体积分数乙醇中脱水, 再放入二甲苯去除乙醇, 浸入熔融的石蜡中进行包埋, 切成 4 μ m 切片, 经二甲苯、梯度乙醇常规脱蜡至水, 冲洗 3 次, 苏木精染 5 min, 伊红染 4 min, 中性树脂封片, 于光学显微镜下观察肿瘤组织病理形态。

2.7 ELISA 法检测血清炎症因子及肿瘤标志物水平 取部分肿瘤组织, 加入组织裂解液, 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清, 按 ELISA 试剂盒说明书检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-10、CA125、CEA 水平。

2.8 Western blot 法检测肿瘤组织 TGF- β 1/Smad 信号通路相关蛋白表达 取部分肿瘤组织置于液氮中研磨, 裂解, 12 000 \times g 离心 5 min, 取上清, BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度。采用 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离, 并转移到聚偏二氟乙烯膜上, 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 加入 TGF- β 1、Smad3、Bcl-2、Caspase-3 (1 : 1 000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min, 加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (1 : 3 000) 室温孵育 1 h, TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min。显微镜下观察并采集图像, 采用化学发光成像系统进行可视化 and 数据分析。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理, 符合方差齐性及正态分布的数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 不同浓度没食子酸对肝癌细胞增殖抑制率的影响 与 0 μ mol/L 没食子酸组比较, 3.125、6.250、15.500 μ mol/L 没食子酸组肝癌 HepG2 细胞和 MHCC97H 细胞增殖抑制率升高 (P < 0.05), 且呈浓度依赖性; 与 HepG2 细胞比较, 3.125、6.250、15.500 μ mol/L 没食子酸组 MHCC97H 细胞的 24、48 h 增殖抑制率升高 (P < 0.05), 见表 1。

表 1 不同浓度没食子酸对肝癌细胞增殖抑制率的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 3)

没食子酸/ (μ mol \cdot L ⁻¹)	24 h 增殖抑制率/%		48 h 增殖抑制率/%	
	HepG2	MHCC97H	HepG2	MHCC97H
0	0	0.00 \pm 5.20	0.00 \pm 2.71	0.00 \pm 1.94
3.125	8.51 \pm 1.14*	15.81 \pm 2.00* [▲]	8.33 \pm 0.97*	15.03 \pm 1.17* [▲]
6.250	23.13 \pm 1.45**	32.58 \pm 3.15** [▲]	20.92 \pm 2.85**	33.96 \pm 2.73** [▲]
15.500	37.16 \pm 0.20** [△]	50.78 \pm 1.93** [△] [▲]	37.07 \pm 3.89** [△]	50.67 \pm 2.60** [△] [▲]

注: 与 0 μ mol/L 没食子酸组比较, *P < 0.05; 与 3.125 μ mol/L 没食子酸组比较, #P < 0.05; 与 6.250 μ mol/L 没食子酸组比较, Δ P < 0.05; 与同浓度没食子酸作用下的 HepG2 细胞比较, Δ P < 0.05。

3.2 不同浓度没食子酸对肝癌细胞凋亡率的影响 与0 μmol/L 没食子酸组比较, 3.125、6.250、15.500 μmol/L 没食子酸组 HepG2 细胞和 MHCC97H 细胞凋亡率升高 ($P < 0.05$), 且呈浓度依赖性, 见表2、图1。

3.3 没食子酸对 HepG2 细胞荷瘤小鼠肿瘤体积、质量和抑制率的影响 与空白对照组比较, 没食子酸各剂量组及阳性对照组小鼠肿瘤体积、质量降低 ($P < 0.05$); 与没食子酸低剂量组比较, 没食子酸高剂量组及阳性对照组小鼠肿瘤体积、质量降低 ($P < 0.05$), 肿瘤抑制率升高 ($P <$

表2 不同浓度没食子酸对肝癌细胞凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

没食子酸/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	HepG2 细胞 凋亡率/%	MHCC97H 细胞 凋亡率/%
0	3.25±0.78	3.30±0.76
3.125	10.35±2.26*	10.33±2.28*
6.250	27.78±4.37**	27.80±4.35**
15.500	40.86±5.10**# Δ	40.89±5.12**# Δ

注: 与0 μmol/L 没食子酸组比较, * $P < 0.05$; 与3.125 μmol/L 没食子酸组比较, # $P < 0.05$; 与6.250 μmol/L 没食子酸组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

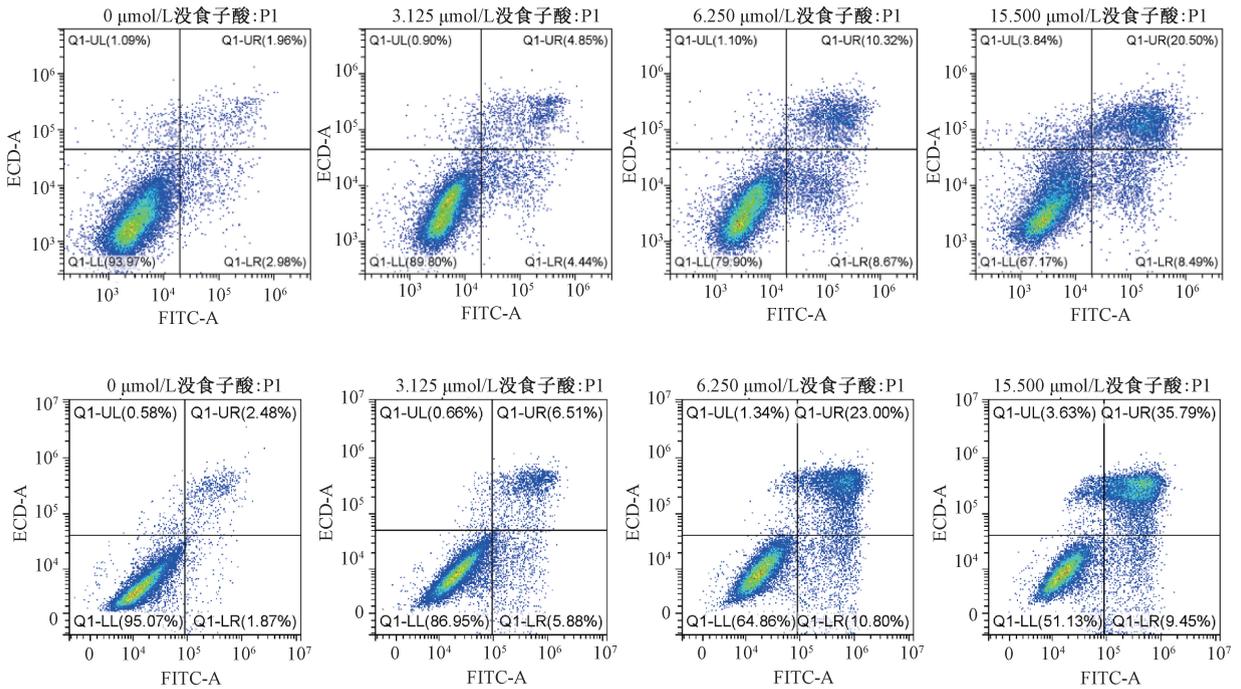


图1 各组肝癌细胞 Annexin V-FITC/PI 染色流式图

0.05); 与阳性对照组比较, 没食子酸高剂量组小鼠肿瘤体积、质量及抑制率无明显变化 ($P > 0.05$), 见表3、图2。

表3 没食子酸对 HepG2 细胞荷瘤小鼠肿瘤体积、质量和抑制率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	肿瘤体积/ cm^3	肿瘤质量/g	肿瘤抑制率/%
空白对照组	9.26±0.58	10.23±0.95	—
没食子酸低剂量组	6.21±0.47*	6.90±0.79*	32.55±3.25
没食子酸高剂量组	4.03±0.34**	3.87±0.61**	62.17±6.87#
阳性对照组	3.95±0.35**	3.79±0.58**	62.95±7.02

注: 与空白对照组比较, * $P < 0.05$; 与没食子酸低剂量组比较, # $P < 0.05$ 。

3.4 没食子酸对 HepG2 细胞荷瘤小鼠肿瘤组织病理形态的影响 空白对照组小鼠肝癌细胞形状不一, 排列紧密, 细胞核增大, 见怪异核, 且多见病理性核分裂, 炎性浸润; 没食子酸低剂量组可见肝癌细胞异型性增生及炎性细胞浸润; 没食子酸高剂量组及阳性对照组小鼠肝癌细胞异型性增生减弱, 炎症细胞浸润减少, 见图3。

3.5 没食子酸对 HepG2 细胞荷瘤小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-10 水平的影响 与空白对照组比较, 没食子酸各剂量组及阳性对照组血清炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-10 水平降低

($P < 0.05$); 与没食子酸低剂量组比较, 没食子酸高剂量组及阳性对照组血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-10 水平降低 ($P < 0.05$); 与阳性对照组比较, 没食子酸高剂量组血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-10 水平无明显变化 ($P > 0.05$), 见表4。

3.6 没食子酸对 HepG2 细胞荷瘤小鼠血清 CA125、CEA 水平的影响 与空白对照组比较, 没食子酸各剂量组及阳性对照组小鼠血清肿瘤标志物 CA125、CEA 水平降低 ($P < 0.05$); 与没食子酸低剂量组比较, 没食子酸高剂量组及阳性对照组血清 CA125、CEA 水平降低 ($P < 0.05$); 与阳性对照组比较, 没食子酸高剂量组血清 CA125、CEA 水平无

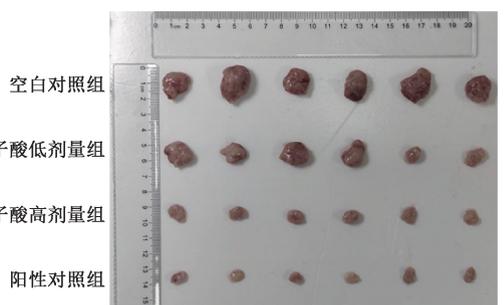


图2 各组小鼠肿瘤观察

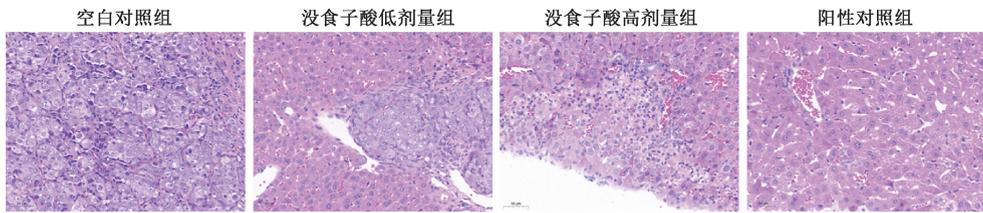


图3 各组小鼠肿瘤组织病理形态 (HE染色, ×200)

表4 没食子酸对 HepG2 细胞荷瘤小鼠血清 TNF-α、IL-1β、IL-10 水平的影响 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	TNF-α	IL-1β	IL-10
空白对照组	1 012.46±103.42	55.67±5.23	58.52±5.01
没食子酸低剂量组	811.98±77.21*	40.67±4.40*	44.87±4.01*
没食子酸高剂量组	606.56±59.24**	29.67±3.12**	32.28±3.26**
阳性对照组	600.67±60.23**	28.98±3.08**	31.79±3.20**

注:与空白对照组比较,*P<0.05;与没食子酸低剂量组比较,#P<0.05。

明显变化 (P>0.05),见表5。

表5 没食子酸对 HepG2 细胞荷瘤小鼠血清 CA125、CEA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	CA125/(IU·mL ⁻¹)	CEA/(ng·mL ⁻¹)
空白对照组	340.46±40.55	230.78±36.33
没食子酸低剂量组	187.46±20.12*	102.67±12.33*
没食子酸高剂量组	121.25±16.13**	80.03±7.95**
阳性对照组	120.96±16.08**	79.84±8.03**

注:与空白对照组比较,*P<0.05;与没食子酸低剂量组比较,#P<0.05。

表6 没食子酸对 HepG2 细胞荷瘤小鼠肿瘤组织 TGF-β1、Smad3、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

组别	TGF-β1	Smad3	Bcl-2	Caspase-3
空白对照组	1.03±0.10	1.13±0.12	0.12±0.03	0.88±0.09
没食子酸低剂量组	0.78±0.08*	0.80±0.09*	0.33±0.08*	0.66±0.07*
没食子酸高剂量组	0.50±0.04**	0.62±0.07**	0.67±0.10**	0.41±0.05**
阳性对照组	0.47±0.05**	0.59±0.06**	0.71±0.11**	0.39±0.05**

注:与空白对照组比较,*P<0.05;与没食子酸低剂量组比较,#P<0.05。

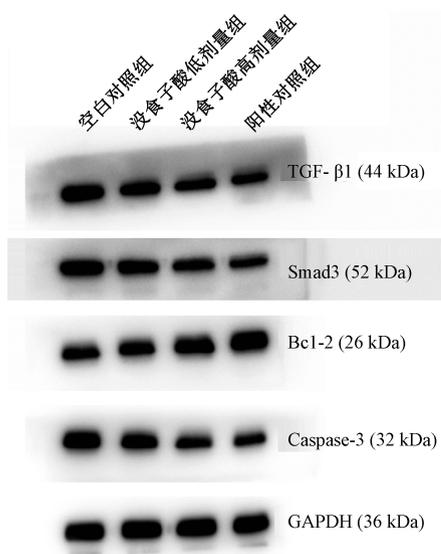


图4 各组小鼠肿瘤组织 TGF-β1、Smad3、Bcl-2、Caspase-3 蛋白条带图

4 讨论

原发性肝癌是全球常见的恶性肿瘤之一,2020年新发

3.7 没食子酸对 HepG2 细胞荷瘤小鼠肿瘤组织 TGF-β1、Smad3、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达的影响 与空白对照组比较,没食子酸各剂量组与阳性对照组 TGF-β1、Smad3、Caspase-3 蛋白表达降低 (P<0.05),Bcl-2 蛋白表达升高 (P<0.05);与没食子酸低剂量组比较,没食子酸高剂量组及阳性对照组 TGF-β1、Smad3、Caspase-3 蛋白表达降低 (P<0.05),Bcl-2 蛋白表达升高 (P<0.05);与阳性对照组比较,没食子酸高剂量组 TGF-β1、Smad3、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达无明显变化 (P>0.05),见表6、图4。

病例约90.6万例^[10],我国肝癌发病率居世界前列^[11]。肝癌的发病原因复杂,与抽烟、酗酒、乙肝、肥胖等因素密切相关,早期症状不明显,晚期常伴随肝区疼痛、乏力等症状^[12]。尽管早期诊断和治疗对改善预后至关重要,但大多数患者在确诊时已处于中晚期,治疗效果差,生存率低^[13]。近年来,中医药在癌症治疗中的潜力日益受到关注,没食子酸被广泛应用于心脑血管疾病、糖尿病等的治疗^[14]。本研究旨在探讨没食子酸通过调控 TGF-β1/Smad 信号通路影响肝癌小鼠免疫逃逸的机制。

细胞凋亡是抗肿瘤药物诱导细胞死亡的主要方式。以往研究指出,没食子酸能够抑制肝癌细胞的生长活力及增殖能力,诱导其凋亡,且呈浓度依赖性^[15]。本研究结果表明,没食子酸能够升高肝癌细胞增殖抑制率,呈时间-浓度依赖性,还可升高肝癌细胞凋亡率,呈剂量依赖性,这与前人的研究结果一致^[15]。动物实验发现,没食子酸能够减小肝癌体积,抑制肿瘤生长。HE染色结果显示,没食子酸组肝癌组织细胞增殖、核异型性、坏死区域减少,提示没食子酸可能具有抑制肝癌细胞生长和促进肝癌细胞凋亡的作用。本研究发现,没食子酸组小鼠血清 TNF-α、IL-1β 水

平降低, 而 IL-10 水平也呈下降趋势, 但考虑到 IL-10 的抗炎作用, 其降低可能反映了整体炎症环境的改善, 而非简单的抗炎因子减少。TNF- α 和 IL-1 β 是促炎因子, 能促进肿瘤细胞增殖、侵袭和转移^[16]。没食子酸通过降低这些因子的水平, 抑制肿瘤相关炎症, 减缓肿瘤进展。同时, IL-10 水平适度降低表明没食子酸在免疫调节中的复杂作用, 既保留抗炎反应又防止免疫抑制导致肿瘤逃逸。本研究发现, 没食子酸可降低小鼠血清中的肿瘤标志物 CA125、CEA 水平, 提示其可能抑制肿瘤生长或减少肿瘤负荷, 支持其作为潜在的抗肿瘤药物。

TGF- β 1/Smad 信号通路在多种肿瘤, 尤其是肝癌与胰腺癌的进展中扮演重要角色, 深度参与调控肿瘤细胞增殖、凋亡及侵袭迁移能力, 其异常激活常导致肿瘤细胞逃脱免疫系统的监视与清除, 从而加速肿瘤的生长与扩散^[17]。Bcl-2 家族蛋白通过调节促凋亡蛋白 Bax 与抗凋亡蛋白 Bcl-2 之间的平衡, 维持细胞稳态。Bcl-2 上调时, 与 Bax 结合形成非活性二聚体, 抑制细胞色素 C 从线粒体释放, 阻止凋亡级联反应的启动, 激活 Apaf-1/Caspase-9 复合物, 进一步激活 Caspase-3 等执行蛋白, 最终引发细胞凋亡^[18-20]。本研究发现, 没食子酸可降低 TGF- β 1 与 Smad3 蛋白表达, 说明其可能通过抑制该信号通路的激活来阻断其介导的促肿瘤效应。同时, 没食子酸还上调了 Bcl-2 蛋白表达, 降低 Caspase-3 的活化水平, 提示其可能通过 2 个方面抑制肝癌的发展: 一方面, 通过抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路来削弱肿瘤细胞的增殖与侵袭能力, 并可能减少肿瘤免疫逃逸; 另一方面, 通过上调 Bcl-2 并抑制 Caspase-3 等凋亡执行蛋白的活化, 来增强肿瘤细胞的抗凋亡能力。

综上所述, 没食子酸可降低小鼠血清炎症因子、肿瘤标志物及 TGF- β 1/Smad 通路蛋白表达, 同时增加 Bcl-2 表达, 可能通过多种机制抑制肝癌进展。但具体机制仍需进一步研究, 可通过基因敲除、RNA 干扰等技术干预 TGF- β 1/Smad 通路, 结合多组学数据解析没食子酸对肝癌进展及免疫逃逸的作用机制。

参考文献:

[1] Cheng K, Cai N, Zhu J H, *et al.* Tumor-associated macrophages in liver cancer; from mechanisms to therapy[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42(11): 1112-1140.

[2] Ji S Y, Feng L, Fu Z L, *et al.* Pharmaco-proteogenomic characterization of liver cancer organoids for precision oncology[J]. *Sci Transl Med*, 2023, 15(706): eadg3358.

[3] Zhan M, Ding Y, Huang S, *et al.* Lysyl oxidase-like 3 restrains mitochondrial ferroptosis to promote liver cancer chemoresistance by stabilizing dihydroorotate dehydrogenase[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 3123.

[4] Nagaraju G P, Dariya B, Kasa P, *et al.* Epigenetics in

hepatocellular carcinoma[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 86(Pt3): 622-632.

[5] Dadrass F, Sher A, Kim E. Update on locoregional therapies for liver cancer: radiation segmentectomy[J]. *Curr Oncol*, 2023, 30(12): 10075-10084.

[6] 李 姣, 孙思全, 张庆芬, 等. 茶条槭叶没食子酸提取工艺优化及抗氧化活性[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(20): 135-143.

[7] 海 乐, 易必新, 潘小红. 没食子酸抑制人舌鳞癌 SCC-9 细胞增殖、凋亡及可能机制研究[J]. *西部医学*, 2024, 36(4): 496-500.

[8] 张金颖, 陈俊玲. 表没食子儿茶素-3-没食子酸酯通过 ERK1/2 通路对肝癌 HepG2 细胞凋亡、增殖、迁移和侵袭的影响[J]. *肿瘤药学*, 2023, 13(1): 50-55.

[9] 吴 昊, 努兰·拜都拉, 刘琳玉, 等. 没食子酸对人食管癌 TE-1 细胞的体外抑制作用及其机制[J]. *中国药房*, 2022, 33(12): 1448-1454.

[10] 张 校, 任亚丽, 黄 璐, 等. 解旋酶样转录因子与消化道肿瘤的关系研究进展[J]. *联勤军事医学*, 2024, 38(2): 171-175.

[11] 王宏博, 刘福晨, 刘 辉, 等. 经肝动脉化疗栓塞术联合多纳非尼与替雷利珠单抗治疗中晚期肝癌 34 例[J]. *临床放射学杂志*, 2024, 43(3): 443-449.

[12] Xue Y T, Ruan Y L, Wang Y L, *et al.* Signaling pathways in liver cancer: pathogenesis and targeted therapy[J]. *Mol Biomed*, 2024, 5(1): 20.

[13] Zhang Z T, Hui L J. Progress in patient-derived liver cancer cell models: a step forward for precision medicine[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2023, 55(11): 1707-1717.

[14] 余梓楷, 柏心瑜, 王 涛. 没食子酸冰片酯的合成及体外抗氧化作用[J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(8): 1129-1133.

[15] 张 依, 张玉峰, 戚亚婷. 基于 PI3K/AKT 信号通路的中药治疗肝癌研究进展[J]. *山东中医杂志*, 2022, 41(5): 583-589.

[16] 李 汨, 蒋承志, 陈建婷, 等. 芒柄花黄素通过 TLR4/NF- κ B 通路抑制肝癌荷瘤小鼠肿瘤免疫逃逸[J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(9): 1872-1877.

[17] Sosnowska M, Kutwin M, Koczoń P, *et al.* Polyhydroxylated fullerene C₆₀ (OH)₄₀ nanofilms promote the mesenchymal-epithelial transition of human liver cancer cells *via* the TGF- β 1/Smad pathway[J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 3739-3761.

[18] 贾苏杰, 孙超迪, 张艺凡, 等. 基于 miRNA-34a-5p/PI3K/Akt 信号通路探讨泄浊解毒方预防小鼠结直肠腺瘤的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(11): 156-165.

[19] 党文军, 聂 宏, 刘 爽, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨八珍汤治疗乳腺癌的作用机制[J]. *现代医药卫生*, 2024, 40(6): 923-929.

[20] 朱志明, 王娟娟, 王苏美, 等. 山茶酚抗肿瘤作用的药理研究进展[J]. *中药新药与临床药理*, 2024, 35(3): 445-452.