

DOI: 10.3969/j.issn.2096-6113.2024.03.019

引用格式:安明宇,田思思,张学武,等.葛根素治疗肝细胞癌的机制研究[J].巴楚医学,2024,7(3):102-110.

葛根素治疗肝细胞癌的机制研究

安明宇¹ 田思思¹ 张学武² 林登梅² 张楠楠¹ 李军¹

(1. 贵州中医药大学基础医学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: **目的:**基于网络药理学、生物信息学及分子对接技术探讨葛根素治疗肝细胞癌(HCC)的作用机制。**方法:**从TCMSP等数据库中获得葛根素作用靶点;美国国家生物技术信息中心(NCBI)-基因表达综合数据库(GEO)中获得HCC数据集;HDDb数据库中获取细胞自噬靶点。三者靶点取交集并构建PPI网络,交集靶点进行分子对接、蛋白表达图谱、临床相关性、生存分析、差异表达、ROC曲线和KEGG通路富集分析。**结果:**最终获得5个交集靶点,分子对接显示有3个蛋白(RHEB、FAS、SERPINA1)能与葛根素高度结合。蛋白表达图谱提示在HCC中RHEB呈高表达,FAS、SERPINA1呈低表达。临床相关性分析、生存分析、差异表达分析和ROC曲线均支持RHEB在葛根素通过作用于细胞自噬治疗HCC。KEGG通路富集显示RHEB参与mTOR-自噬通路。**结论:**葛根素可能通过作用于自噬相关基因RHEB,从而起到治疗HCC的作用。

关键词: 葛根素; 肝细胞癌; 自噬; 脑Ras同源蛋白

中图分类号: R735.7

文献标志码: A

文章编号: 2096-6113(2024)03-0102-09

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Mechanism of *Puerarin* in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma

An Mingyu¹ Tian Sisi¹ Zhang Xuewu² Lin Dengmei² Zhang Nanman¹ Li Jun¹

(1. School of Basic Medical Sciences, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 2. School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

Abstract Objective: To explore the mechanism of *puerarin* in the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) based on network pharmacology, bioinformatics and molecular docking techniques. **Methods:** The target of *puerarin* was obtained from TCMSP and other databases. HCC data sets were obtained from the National Center of Biotechnology Information (NCBI)-Integrated Gene Expression Database (GEO). Autophagy targets were obtained from HDDb database. The targets of the three were intersected and PPI networks were constructed. The intersection targets were analyzed for molecular docking, protein expression profile, clinical correlation, survival analysis, differential expression, ROC curve and KEGG pathway enrichment analysis. **Results:** A total of 5 intersection targets were obtained, and molecular docking showed that 3 proteins (RHEB, FAS, SERPINA1) were highly binding to *puerarin*. The protein expression profile indicated that RHEB was highly expressed in HCC, while FAS and SERPINA1 were low expressed. Clinical correlation analysis, survival analysis, differential expression analysis and ROC curve all supported that RHEB of *puerarin* treated HCC by acting on autophagy. KEGG pathway enrichment showed that RHEB was

基金项目:2021年国家自然科学基金后补助资金科研创新探索专项项目(No: 2019YFC171250503);贵州中医药大学研究生教育创新项目(No: YCXZR2021007)

作者简介:安明宇,女,硕士,研究方向为肝癌中药研究。E-mail: 431953595@qq.com

通信作者:李军,男,博士,副教授,研究方向为糖尿病及肝癌中药研究。E-mail: 971339248@qq.com

involved in the mTOR-autophagy pathway. **Conclusion:** *Puerarin* may play a role in the treatment of HCC by acting on RHEB, a gene associated with autophagy.

Keywords *puerarin*; hepatocellular carcinoma (HCC); autophagy; ras homolog enriched in brain (RHEB)

全球癌症负担日益加重,其中肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发病率及死亡率呈逐年上升趋势^[1-2]。HCC 与肝炎病毒感染、肝硬化、酒精性肝硬化之间有较强的关联性,其中乙型肝炎病毒是 HCC 发病危险性最高的诱因^[3]。HCC 患者预后较差,目前临床上只有 5%~15% 早期 HCC 患者符合手术切除的条件,中期患者的一线治疗方案主要为经动脉化疗栓塞,全身性治疗是目前改善晚期患者生活质量的唯一治疗方法,但目前存在耐药性、药物毒性和/或药物无效的问题^[4]。

肝脏是人体重要的解毒器官,自噬在肝脏生理和病理过程中起着重要作用。自噬是一类溶酶体降解途径,是一种自然的调节机制,在机体生存、发育和体内平衡中扮演着重要角色^[5]。研究发现,在 RAS 转化的癌细胞中,自噬可促进肿瘤细胞生长、侵袭和转移^[6]。自噬可通过抑制细胞凋亡和 p53 活化介导 HCC 进展^[7]。探索 HCC 与自噬的相关标记物,对于探索 HCC 的发病机制和发现新的治疗手段具有重要意义。

葛花又称葛条花,具有解酒醒脾的功能,常用来治疗伤酒发热烦渴、呕逆吐酸、吐血等病症。研究表明,葛花活性成分中异黄酮含量最多,而葛根素是野葛异黄酮类化合物的主要成分,可提高机体免疫力,防止肝脏组织的免疫损害^[8]。Xu 等^[9]研究表明,葛根素可以逆转肝纤维化,防止肝毒性的发生,但用于治疗 HCC 的作用机制尚不明确。

总体而言,本研究拟借助网络药理学分析构筑“成分-靶点-疾病-自噬”相互作用的关系网络,并充分运用分子对接技术估算靶点与葛根素之间的亲和力,探究葛根素治疗 HCC 的作用靶点及其可能的分子作用机制,为更好地开发利用葛根素提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 挖掘葛根素-肝细胞癌-自噬作用靶点

通过数据库查找葛根素的已验证靶点,在 SymMap(www.symmap.org)、中草药系统药理学平台(Traditional Chinese medicine systems pharmacology database, TCMSP)(https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php)、HERB(http://herb.ac.cn/)等数据库

中以“*puerarin*”为关键词来寻得药物靶点。从 PubChem(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)获取葛根素的 SMILES 式,输入到 SuperPred(https://prediction.charite.de/),SEA(https://sea.bkslab.org/),PharmMapper(http://lilab-ecust.cn/pharm-mapper/),SwissTargetPrediction(http://www.swisstargetprediction.ch/)等资料平台中获取药物靶点。将药物靶点整合成一个数据集。

HCC 靶点芯片来源于美国国家生物技术信息中心(National Center For Biotechnology Information, NCBI)-基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo),利用在线程序 GEO2R(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/)遴选差异基因。遴选准则为 $P < 0.05$, $\log FC > 1$ 和 $\log FC < -1$,并将探针名称转换成标准基因名称。

人类自噬数据库(human autophagy database, HADb)(http://www.autophagy.lu/)是首个人类自噬专属的公益性资料库,可提供详尽且全新的参与自噬的人类基因组和蛋白条目。我们通过 HADb 获取自噬相关基因列表。

采用 Venny 2.1(https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html)在线计算机程序处置药物靶点、HCC 靶点和自噬相关靶点获得交集靶点,当作中心基因开展下一阶段研究。将葛根素和中心靶点对应,通过 Cytoscape 3.9.0 软件创建“成分-靶点-疾病-自噬”蛋白-蛋白相互作用网络(protein-protein interaction networks, PPI)。

为更加明确中心靶点之间的相互关系,我们在 R 3.6.3 版本中对葛根素-HCC-自噬相互作用的基因列表进行相关性分析。

1.2 分子对接

从结构生物信息学蛋白质数据库研究协作实验室(https://www.rcsb.org/)蛋白质晶体结构数据库、Uniprot(https://www.uniprot.org/uploadlists/)数据库获取靶点蛋白的 3D 分子结构,经由 TCMSP 数据库和 PubChem 数据库寻得葛根素的 3D 结构,将蛋白及葛根素的结构一一对应,引入 Discovery Studio 2016 Client 应用程序进行分子对接。

1.3 蛋白差异表达分析

人类蛋白表达图谱平台(the human protein atlas project, THPA) (<https://www.proteinatlas.org/>)包含正常组织或癌症组织的蛋白表达相关信息,其中包括超过50%的人类蛋白质编码基因与11 200种独特蛋白质相关。利用此数据库,可以搜集正常肝组织与HCC组织的蛋白表达情况。我们将基因载入THPA数据库系统获取蛋白差异表达图谱,用以检验差异表达水平。

1.4 临床相关性分析

充分利用阿拉巴马大学伯明翰分校癌症数据分析门户(the university of Alabama at Birmingham cancer data analysis portal, UALCAN) (<https://ualcan.path.uab.edu>)开放平台,系统分析采自癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)的癌症组学信息。其中架设的甄选前提是:“数据库:TCGA”;“Enter gene symbol(s):FAS, RHEB, SERPINA1”;“TCGA dataset:Liver hepatocellular carcinoma”;“S100P expression based on:Individual cancer stages, Patients’s gender, Nodal Metastasis status”。

1.5 患者十年生存预后分析

利用TCGA数据库系统,用Kaplan-Meier演算法综合评价基于中心靶点表达的最佳分离的“高”和“低”风险组之间的偏差,依托生存意义($P < 0.05$)筛选出下一步研究的关键靶点。分析通过survminer和survival的R软件包实施。

1.6 差异表达分析

运用从GEO数据库等寻找的HCC相关数据集GSE33006与GSE45267来验证关键靶点基因的表达差异值。

1.7 关键靶点的通路分析

通过基因注释和分析资源数据库Metascape (<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)和KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)数据库(<https://www.kegg.jp/kegg/>)对关键靶点进行通路富集分析,进一步明确葛根素-HCC-自噬的作用机制。

2 结果

2.1 HCC 差异基因的鉴别

从GEO数据库得到HCC芯片数据集GSE33006和GSE45267,HCC组织分别有3例和46例,健康组织分别有3例和41例,晶片研究属性为“expression profiling by array”。数据集GSE33006进行归一化

和log₂转化处理,筛选标准为 $P < 0.05$ 、 $\log_2 FC > 1$ 和 $\log_2 FC < -1$,发现上调、下调差异表达基因分别有1 836个和1 139个(图1A)。数据集GSE45267进行归一化和log₂转化处理,发现上调和下调基因分别有569个和762个(图1B)。我们进一步将两个数据集的差异表达基因和葛根素靶点、自噬相关靶点进行交集分析,获得5个交集靶点,分别为脑内富集的脑Ras同源蛋白(ras homolog enriched in brain, RHEB)、Fas细胞表面死亡受体(fas cell surface death receptor, FAS)、丝氨酸蛋白酶抑制剂家族A成员1(serpin family A member 1, SERPINA1)、BIRC5、FOS,他们可能是葛根素干预HCC的自噬基因,其结果如图1C所示。随后构建了葛根素-HCC-自噬-交集靶点PPI网络图,结果如图1D所示。以图稳步探求交集靶点之间的关联性,对它们实施了基因相关性预测,研判结果如图1E所述,呈明显正相关的有三组:RHEB-BIRC5、FAS-FOS、SERPINA1-FOS($P < 0.01$),呈显著负相关的有三组:FAS-BIRC5、SERPINA1-BIRC5、SERPINA1-RHEB($P < 0.01$)。

2.2 葛根素通过影响自噬干预HCC的靶点筛选及分子对接

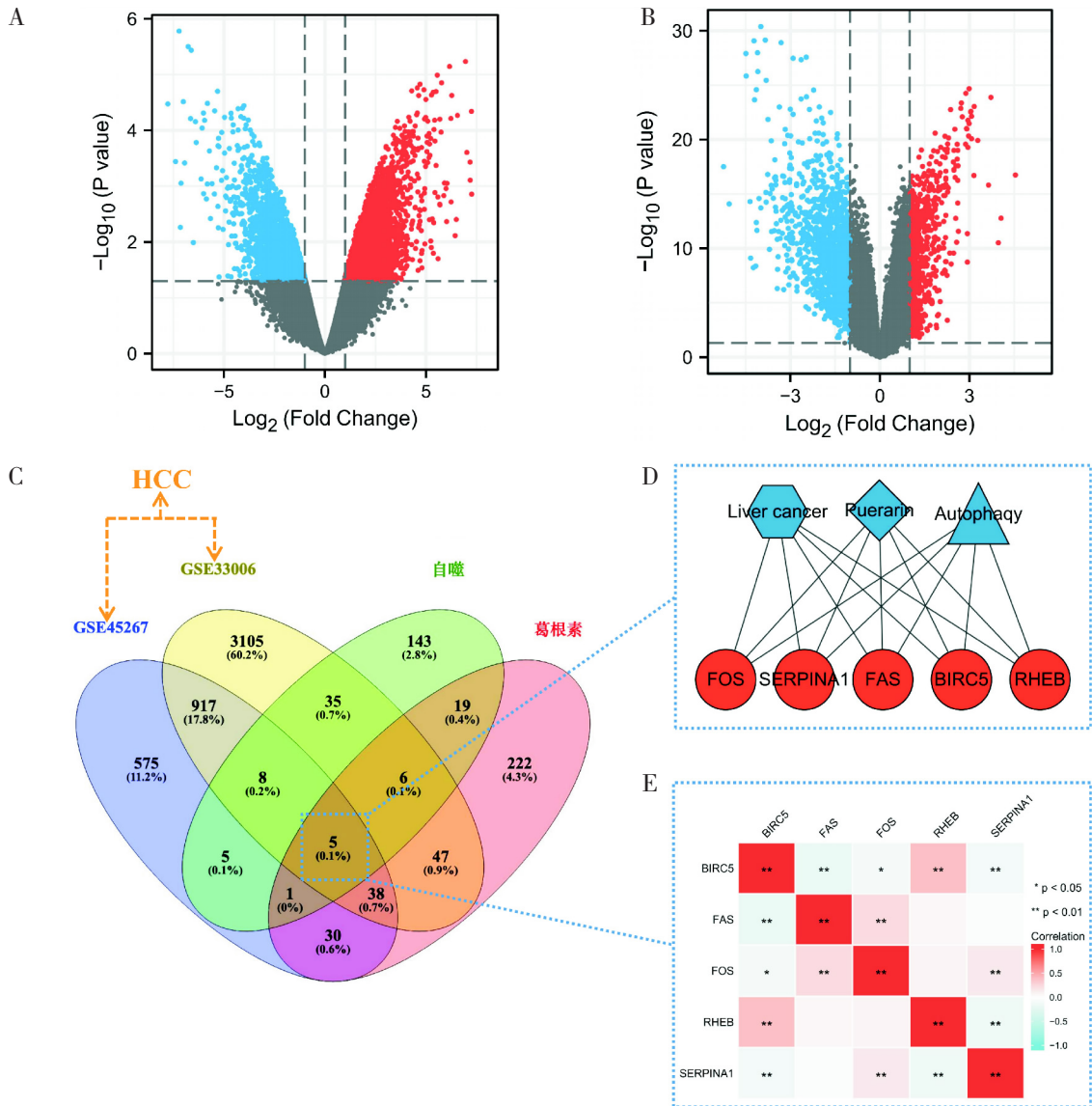
将5个靶点对应的蛋白结构和葛根素对应输入Discovery Studio 2016 Client软件开展分子对接。其中有三个蛋白(RHEB、FAS、SERPINA1)能与葛根素结合,RHEB与葛根素的对接分数为127.726(见图2),FAS与葛根素的对接分数为:112.685,SERPINA1与葛根素的对接分数为70.592。对接分数越高说明化合物与治疗靶点的亲和力越好。在接下来的研究中,我们将这三个靶点作为关键靶点,进行更深入的探究。

2.3 关键靶点的蛋白表达分析

我们在THPA数据库收集关键靶点的蛋白表达图谱,RHEB在HCC组织中表达水平高于正常组,FAS、SERPINA1在HCC组织中低表达(见图3)。

2.4 关键靶点的临床相关性分析

进一步聚焦关键靶点,我们使用UALCAN研究了RHEB、FAS、SERPINA1的表达与HCC患者临床病理学特征的关联,我们主要探究了与性别、癌症各阶段、淋巴转移度的相关性。如图4A~4C所示,RHEB在两性患者、癌症各阶段和淋巴转移度中表达水平均显著高于正常组。在图4D~4F中可以看到,FAS的差异表达不明显。而图4G~4I表明,SERPINA1在两性患者、癌症各阶段和淋巴转移度中表达水平均显著低于正常组。



注:A: GSE33006 差异表达基因火山图,浅蓝色为下调基因(log FC<-1),橘红色为上调基因(log FC>1); B: GSE45267 差异表达基因火山图,浅蓝色为下调基因(log FC<-1),橘红色为上调基因(log FC>1); C: 葛根素-HCC-自噬交集靶点图; D:5 个交集靶点基因; E:基因相关性分析

图 1 HCC 差异基因的鉴别

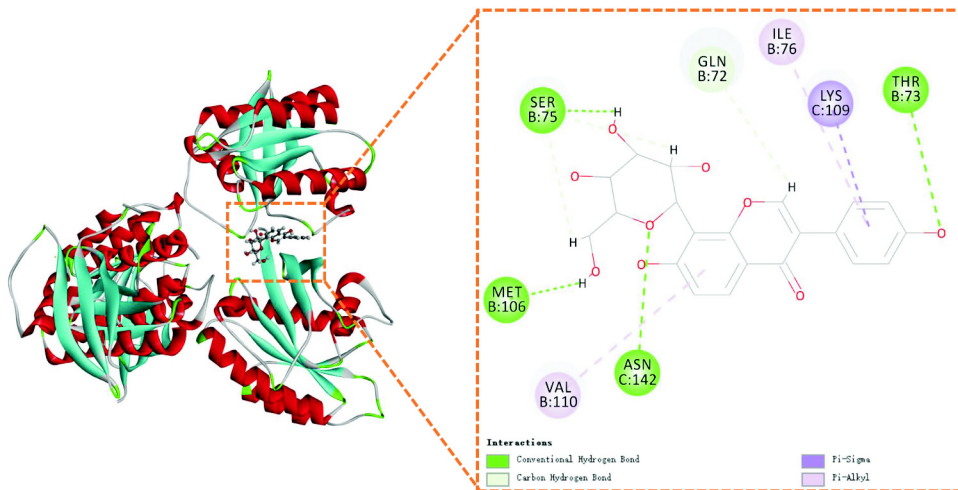
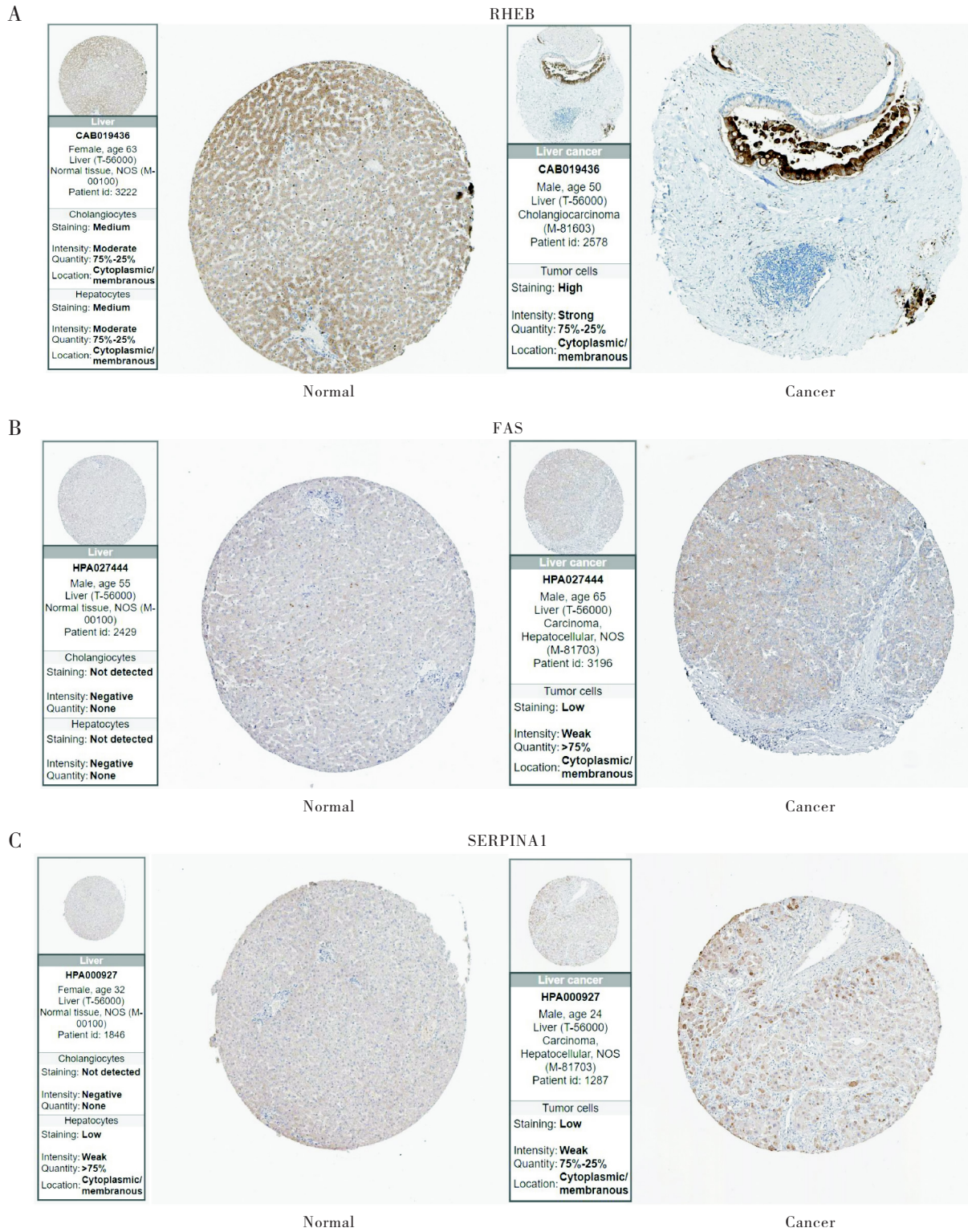


图 2 RHEB 与葛根素对接



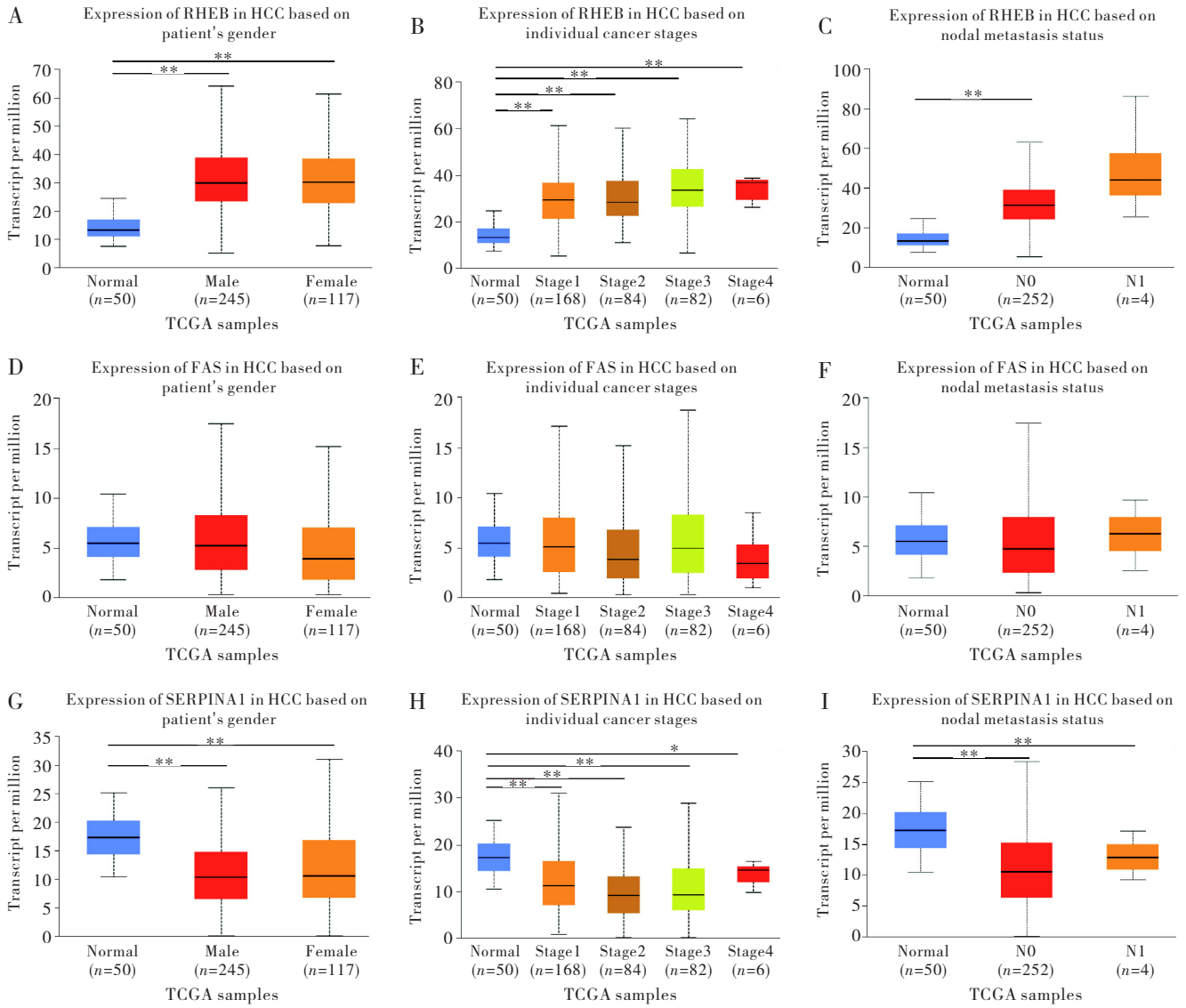
注: A:RHEB 在 HCC 组织中高表达; B:FAS 在 HCC 组织中低表达; C:SERPINA1 在 HCC 组织中低表达

图 3 关键靶点蛋白表达图谱分析

2.5 关键靶点生存预后分析

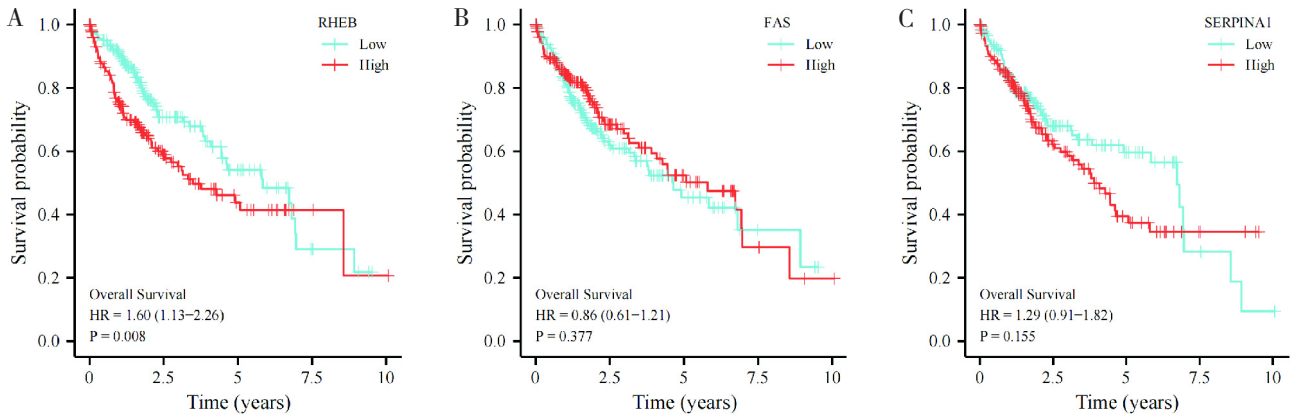
灵活借助 Kaplan-Meier 绘图仪判别验证关键靶点的生存预后价值,预测了关键靶点的表达水平与 HCC 患者 10 年总存活率(overall survival, OS)二者之间的关联。结果显示,RHEB 以 5~7.5 年为节点,在此节点前其高表达提示低生存率($P < 0.05$,见图

5A)。FAS 和 SERPINA1 的表达水平与生存率之间的关系则并无明显的差异(均 $P > 0.05$,见图 5B、5C)。由于只有 RHEB 的表达与肝癌生存预后关系明显,因此接下来的分析我们将以 RHEB 为研究对象。



注：A: HCC 患者中 RHEB 表达水平；B: HCC 患者不同癌症阶段时 RHEB 表达水平；C: HCC 患者不同淋巴结转移情况时 RHEB 表达水平；D: HCC 患者中 FAS 表达水平；E: HCC 患者不同癌症阶段时 FAS 表达水平；F: HCC 患者不同淋巴结转移情况时 FAS 表达水平；G: HCC 患者中 SERPINA1 表达水平；H: HCC 患者不同癌症阶段时 SERPINA1 表达水平；I: HCC 患者不同淋巴结转移情况时 SERPINA1 表达水平；* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$

图 4 关键靶点的临床相关性分析组图

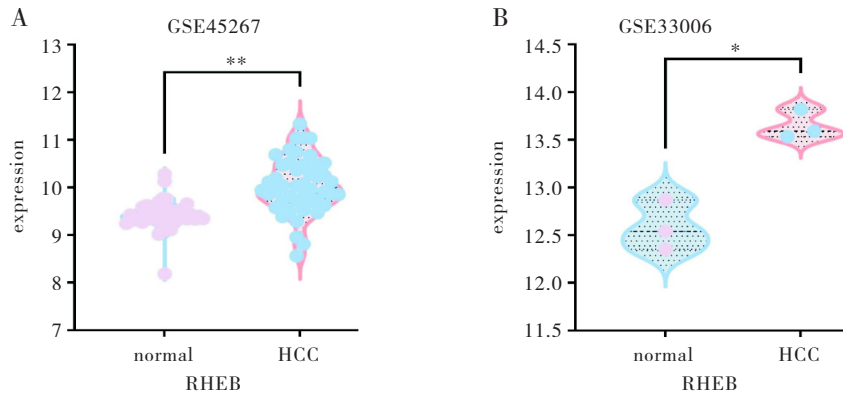


注：A: RHEB 与 HCC 患者的生存预后分析；B: FAS 与 HCC 患者的生存预后分析；C: SERPINA1 与 HCC 患者的生存预后分析
图 5 关键靶点与 HCC 患者 OS 曲线

2.6 关键靶点基因差异表达分析

我们使用两个数据集 GSE33006 和 GSE45267 对基因 RHEB 进行验证,将这两个数据集里的

RHEB 基因表达值导入 GraphPad Prism 9 软件进行分析,独立样本 *t* 检验显示 RHEB 在两个数据集中差异显著(见图 6A、6B)。



注:A:RHEB 基因在数据集 GSE45267 中差异显著; B: RHEB 基因在数据集 GSE33006 中差异显著; * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$

图 6 RHEB 差异表达水平图

2.7 关键靶点的通路富集分析

将关键靶点 (RHEB、FAS、SERPINA1) 导入 KEGG 数据库进行富集分析,这些关键靶点主要调控磷脂酰肌醇 3-激酶-A 丝氨酸/苏氨酸激酶 (phosphatidylinositide 3-kinases-A serine/threonine kinase, P13K-Akt)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK)、

肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、P53 和 坏死性凋亡等信号通路,并且与人乳头瘤病毒感染、乙型肝炎、酒精性肝病等疾病通路相关(见图 7)。基于 2.5 和 2.6 的研究,我们聚焦有生存意义和诊断筛检价值的靶点 RHEB,将 RHEB 输入 Metascape 数据库和 KEGG 数据库进行通路分析,发现其富集于 mTOR-自噬信号通路(见图 8)。

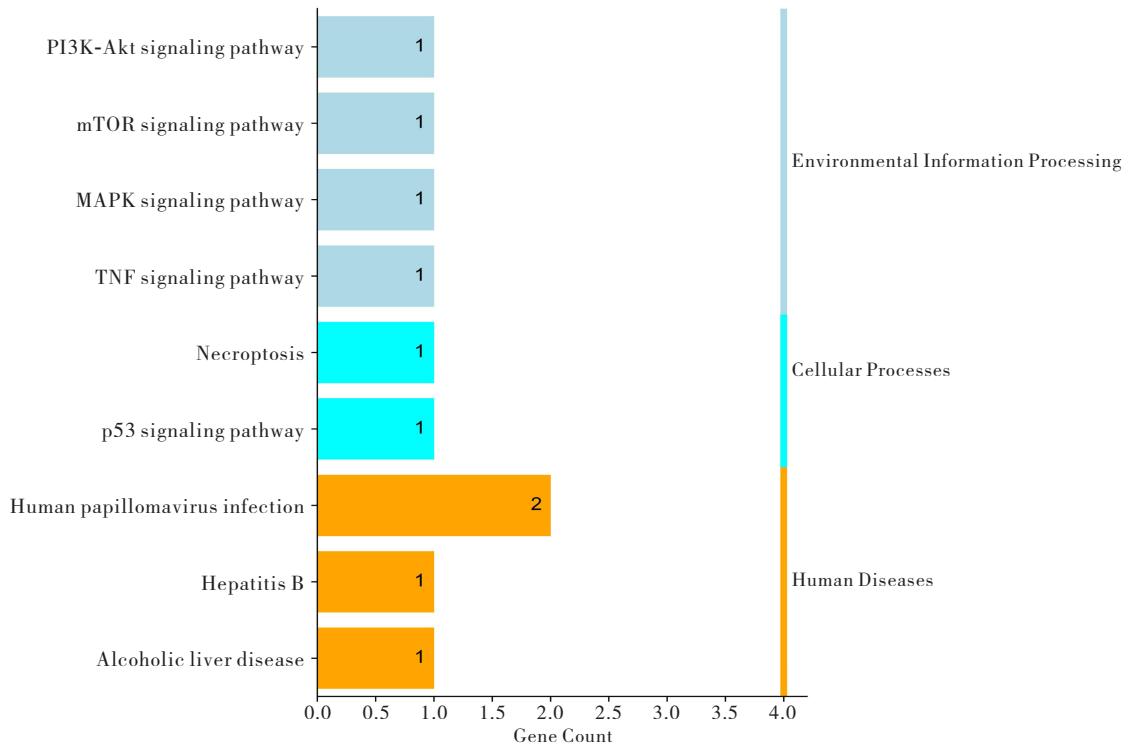


图 7 关键靶点的信号通路分析

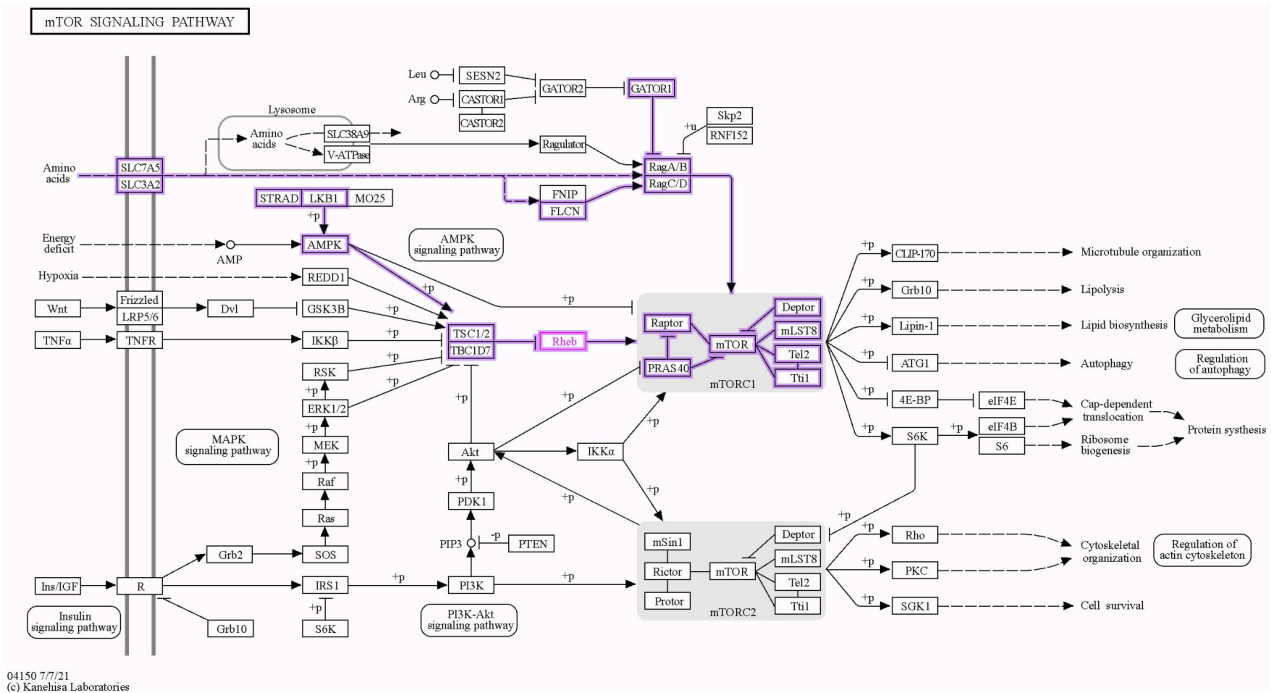


图 8 RHEB 与 mTOR-自噬信号通路

3 讨论

自噬已被证实参与包括 HCC 在内的多种肝脏疾病^[10-13], 肿瘤的发生发展受到自噬相关基因异常表达的影响^[14]。临床研究表明^[15-16], 自噬靶向治疗具有抗肿瘤活性。因此, 我们探索药物通过调节自噬从而治疗 HCC, 这对研究 HCC 的发病机制及生物标记物具有重要意义。葛根素兼具抗肿瘤和保肝等作用, 改善机体的免疫功能、提高化疗敏感性、抑制细胞增殖及促进细胞凋亡, 从而影响肿瘤细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡和自噬^[17-18]。

本研究将初步获取的 5 个与自噬相关的基因中心靶点进行 PPI 分析、基因相关性分析和分子对接, 结果显示其中 3 个蛋白 (RHEB、FAS、SERPINA1) 和葛根素高度结合, 其中 RHEB 与葛根素的对接分数高达 127.726, 这意味着葛根素与自噬基因 RHEB 具有高亲和力。蛋白差异表达分析表明三个关键靶点在癌症组织中均有显著差异表达, 临床分析中 RHEB、SERPINA1 表达有显著差异。而后续生存预后分析发现 RHEB 与 HCC 的预后具有显著相关性, 总生存时间与 RHEB 表达水平密切相关, 在 RHEB 高表达的患者中, 总生存时间下降。基于此, 我们深入分析具有生存预后价值的自噬基因 RHEB, 差异表达验证 RHEB 在数据集 GSE33006 和 GSE45267 中表达显著, KEGG 通路分析表明 RHEB 参与 mTOR-自噬通路。因此, RHEB 可能是葛根素-HCC-自噬生

物标志物和新的治疗靶点, 可用于开发 HCC 癌症管理的新治疗模式和药物的新利用。

本研究发现, RHEB 在 HCC 组织中高表达, 蛋白表达也相对高于正常组织。临床相关性分析表明其在性别、癌症 I、II、III、IV 各阶段和淋巴转移度 N0~N1 中表达水平均显著高于正常组。生存分析提示 RHEB 高表达患者预后较差。ROC 分析表明 RHEB 在 HCC 中有相对较高的诊断筛检价值。KEGG 通路富集分析中 RHEB 参与 mTOR-自噬通路。研究发现^[19-20], HCC 患者中, RHEB 的表达随临床分期的增加而增加, 过表达 RHEB 的患者肿瘤切除术后复发率增加和总生存时间缩短, 这可能是因为 RHEB 参与了 HCC 的增殖、侵袭、转移、复发和预后。此外, RHEB 可通过 mTOR 信号通路和雄性激素受体的转录活性激活 S6 激酶 (S6 kinase, S6K) 转录因子来调节前列腺癌细胞的增殖^[21]。研究发现, RHEB 位于肿瘤抑制剂结节性硬化症 (tuberous sclerosis complex, Tsc) 1 和 Tsc2 的下游, 以及 mTOR-S6K 信号通路中 mTOR 的上游^[22-23]。RHEB 可以激活 mTOR 信号通路, 促进 mRNA 翻译和蛋白质合成, 从而抑制自噬, 促进癌细胞生长^[24-25]。

综上所述, 葛根素可能通过作用于自噬相关基因 RHEB, 从而起到治疗 HCC 的作用。本研究是以现有数据库为基础进行建模, 结果可能存在一定局限性。在理论层面对葛根素在 HCC 治疗中的作用机制进行了分析, 为 HCC 患者治疗及临床研究提供参考。

参考文献:

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] 曹毛毛, 李贺, 孙殿钦, 等. 全球肝癌 2020 年流行病学现状[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2022, 29(5): 322-328.
- [3] Llovet J M, Kelley R K, Villanueva A, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 6.
- [4] Reig M, Forner A, Rimola J, et al. BCLC strategy for prognosis prediction and treatment recommendation: the 2022 update[J]. *J Hepatol*, 2022, 76(3): 681-693.
- [5] Desideri E, Castelli S, Dorard C, et al. Impaired degradation of YAP1 and IL6ST by chaperone-mediated autophagy promotes proliferation and migration of normal and hepatocellular carcinoma cells [J]. *Autophagy*, 2023, 19(1): 152-162.
- [6] Wang Y H, Xiong H, Liu D, et al. Autophagy inhibition specifically promotes epithelial-mesenchymal transition and invasion in RAS-mutated cancer cells[J]. *Autophagy*, 2019, 15(5): 886-899.
- [7] Yang Y, Karsli-Uzunbas G, Poillet-Perez L, et al. Autophagy promotes mammalian survival by suppressing oxidative stress and p53[J]. *Genes Dev*, 2020, 34(9-10): 688-700.
- [8] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草-4 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [9] Xu L Y, Zheng N, He Q L, et al. Puerarin, isolated from *Pueraria lobata* (Willd.), protects against hepatotoxicity via specific inhibition of the TGF- β 1/Smad signaling pathway, thereby leading to anti-fibrotic effect [J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(13): 1172-1179.
- [10] Fernández-Palanca P, Payo-Serafin T, San-Miguel B, et al. Hepatocellular carcinoma cells loss lenvatinib efficacy in vitro through autophagy and hypoxia response-derived neuropilin-1 degradation[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(5): 1066-1082.
- [11] Wong M M T, Chan H Y, Aziz N A, et al. Interplay of autophagy and cancer stem cells in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(4): 3695-3717.
- [12] An L X, Wirth U, Koch D, et al. Metabolic role of autophagy in the pathogenesis and development of NAFLD [J]. *Metabolites*, 2023, 13(1): 101.
- [13] Sheng J Q, Wang M R, Fang D, et al. LncRNA NBR2 inhibits tumorigenesis by regulating autophagy in hepatocellular carcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 111023.
- [14] Karampa A D, Goussia A C, Glantzounis G K, et al. The role of macroautophagy and chaperone-mediated autophagy in the pathogenesis and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancers*, 2022, 14(3): 760.
- [15] Zhang H, Xia P, Liu J, et al. ATIC inhibits autophagy in hepatocellular cancer through the AKT/FOXO3 pathway and serves as a prognostic signature for modeling patient survival[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(15): 4442-4458.
- [16] Wu Y F, Zhang J G, Li Q. Autophagy, an accomplice or antagonist of drug resistance in HCC? [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(3): 266.
- [17] 史晨旭, 杜佳蓉, 吴威, 等. 葛根化学成分及药理作用研究进展[J]. *中国现代中药*, 2021, 23(12): 2177-2195.
- [18] 梁义, 李健, 白波, 等. 葛根素对肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡与迁移的影响[J]. *解剖科学进展*, 2022, 28(6): 711-713.
- [19] Huang X Y, Huang Z L, Zhang P B, et al. CircRNA-100338 is associated with mTOR signaling pathway and poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 392.
- [20] Wang S Q, Yang D L, Kong W. Prediction of overall survival rate in patients with hepatocellular carcinoma using an integrated model based on autophagy gene marker[J]. *Front Genet*, 2021, 12: 647309.
- [21] de la Torre C, Játiva P, Posadas I, et al. A β -cyclodextrin-based nanoparticle with very high transfection efficiency unveils siRNA-activated TLR3 responses in human prostate cancer cells[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(11): 2424.
- [22] Hu D X, Jiang L, Luo S J, et al. Development of an autophagy-related gene expression signature for prognosis prediction in prostate cancer patients[J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1): 160.
- [23] Dong P P, Wang X X, Liu L Z, et al. Dampened VEPH1 activates mTORC1 signaling by weakening the TSC1/TSC2 association in hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2020, 73(6): 1446-1459.
- [24] Yang H, Ni H M, Ding W X. The double-edged sword of MTOR in autophagy deficiency induced-liver injury and tumorigenesis[J]. *Autophagy*, 2019, 15(9): 1671-1673.
- [25] Chao X J, Wang S G, Fulte S, et al. Hepatocytic p62 suppresses ductular reaction and tumorigenesis in mouse livers with mTORC1 activation and defective autophagy [J]. *J Hepatol*, 2022, 76(3): 639-651.

[收稿日期 2023-07-11]