

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.03.009

积雪草苷通过 cAMP/PKA/CREB 信号通路抑制肝细胞癌 Huh7 细胞的恶性生物学行为

刘志超¹, 党同科¹, 满高亚¹, 陈鹏² (1. 滕州市中心人民医院 肝胆外科, 山东 滕州 277599; 2. 滕州市中心人民医院 消化内科, 山东 滕州 277599)

[摘要] **目的:** 探讨积雪草苷(ASI)是否通过环磷酸腺苷/蛋白激酶A/环磷酸腺苷反应成分结合蛋白(cAMP/PKA/CREB)信号通路调节肝细胞癌Huh7细胞的恶性生物学行为。**方法:** MTT筛选合适的ASI及时间后,将Huh7细胞分为对照组、ASI低剂量组(ASI-L组, 20 $\mu\text{mol/L}$ ASI)、ASI中剂量组(ASI-M组, 40 $\mu\text{mol/L}$ ASI)、ASI高剂量组(ASI-H组, 80 $\mu\text{mol/L}$ ASI)及ASI-H+Forskolin组(80 $\mu\text{mol/L}$ ASI+100 $\mu\text{mol/L}$ cAMP激活剂-Forskolin),按照上述分组处理48 h后,MTT及细胞克隆实验检测Huh7细胞增殖;Transwell实验分析Huh7细胞迁移、侵袭变化;膜联蛋白V-FITC凋亡试剂盒检测细胞凋亡变化;ELISA实验、WB法检测Huh7细胞的cAMP分泌水平及p-PKA、p-CREB蛋白的表达水平;将Huh7细胞经皮下注射于裸鼠右腹部,建立肝癌异种移植模型,以5、15和45 mg/kg的ASI灌胃干预4周,分离肿瘤组织并称质量。**结果:** 以接近 IC_{50} 的40 $\mu\text{mol/L}$ ASI处理48 h为合适的浓度和时间。ASI-L组、ASI-M组、ASI-H组Huh7细胞增殖及克隆数、迁移数、侵袭数、cAMP水平、p-PKA/PKA和p-CREB/CREB表达均显著低于对照组(均 $P < 0.05$),而凋亡率均显著高于对照组(均 $P < 0.05$);ASI-H+Forskolin组Huh7细胞增殖及克隆数、迁移数、侵袭数、cAMP水平、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB表达均显著高于ASI-H组(均 $P < 0.05$),而Huh7细胞凋亡率显著低于ASI-H组($P < 0.05$);在裸鼠移植瘤实验中,5、15和45 mg/kg ASI处理组的移植瘤质量均显著低于对照组(均 $P < 0.05$)。**结论:** ASI可通过下调cAMP/PKA/CREB信号通路蛋白表达抑制Huh7细胞的恶性生物学行为、促进其凋亡,以及抑制裸鼠移植瘤的生长。

[关键词] 积雪草苷;肝细胞癌;Huh7细胞;cAMP/PKA/CREB信号通路

[中图分类号] R735.1;R730.43 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025)03-0294-07

Asiaticoside inhibits the malignant biological behavior of hepatocellular carcinoma Huh7 cells via the cAMP/PKA/CREB signaling pathway

LIU Zhichao¹, DANG Tongke¹, MAN Gaoya¹, CHEN Peng² (1. Department of Hepatobiliary Surgery, Tengzhou Central People's Hospital, Tengzhou 277599, Shandong, China; 2. Department of Gastroenterology, Tengzhou Central People's Hospital, Tengzhou 277599, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate whether asiaticoside (ASI) regulates the malignant biological behavior of hepatocellular carcinoma Huh7 cells via the cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A/cAMP-response element binding protein (cAMP/PKA/CREB) signaling pathway. **Methods:** After determining the suitable ASI concentration and treatment duration using MTT assay, Huh7 cells were divided into the following groups: control, ASI-L (20 $\mu\text{mol/L}$), ASI-M (40 $\mu\text{mol/L}$), ASI-H (80 $\mu\text{mol/L}$), and ASI-H+Forskolin (80 $\mu\text{mol/L}$ ASI + 100 $\mu\text{mol/L}$ cAMP activator Forskolin) groups. After 48 h of treatment, cell proliferation was assessed using MTT and colony formation assays; cell migration and invasion were analyzed using Transwell assays; apoptosis was detected using an Annexin V-FITC apoptosis detection kit. The secretion level of cAMP and the protein expression levels of phosphorylated PKA (p-PKA) and phosphorylated CREB (p-CREB) were evaluated using ELISA and Western blotting, respectively. A subcutaneous xenograft model was established by injecting Huh7 cells into the right abdomen of nude mice. ASI was administered by gavage at doses of 5, 15, and 45 mg/kg for 4 weeks. Tumors were then harvested and weighed. **Results:** Treatment with 40 $\mu\text{mol/L}$ ASI for 48 hours (close to the IC_{50}) was determined to be the appropriate concentration and duration. Compared with the control group, the ASI-L, ASI-M, and ASI-H groups showed significantly reduced Huh 7 cell proliferation, colony formation, migration, invasion, cAMP levels, and expression of p-PKA/PKA and p-CREB/CREB (all $P < 0.05$), while apoptosis rates were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the ASI-H group, the ASI-H + Forskolin group exhibited significantly increased proliferation, colony formation, migration,

[基金项目] 济宁医学院教师科研扶持项目(No. JYFC2019FKJ301)

[作者简介] 刘志超(1983—),男,硕士,主治医师,主要从事肝胆胰脾疾病相关研究。E-mail: r31fzw@163.com

[通信作者] 满高亚, E-mail: o52hgo@163.com

invasion, cAMP level, and expression of p-PKA/PKA and p-CREB/CREB (all $P < 0.05$), but apoptosis was significantly reduced (all $P < 0.05$). In the nude mouse xenograft model, ASI at 5, 15, and 45 mg/kg markedly decreased tumor weight in nude mice (all $P < 0.05$). **Conclusion:** ASI inhibits the malignant biological behaviors and promotes apoptosis of Huh7 cells, as well as suppresses tumor growth in nude mice, by downregulating the expression of proteins in the cAMP/PKA/CREB signaling pathway.

[Key words] asiaticoside; hepatocellular carcinoma; Huh7 cell; cAMP/PKA/CREB signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(3): 294-300. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.03.009]

肝细胞癌是一种常见的肝脏恶性肿瘤,近年来,在大多数国家,肝细胞癌的发病率、复发率和死亡率持续上升^[1]。中国是世界上肝癌发病率最高的国家,全球新发原发性肝癌居恶性肿瘤第6位,而中国患者约占全球新增病例的45.3%,病死数占47.1%^[2]。肝细胞癌可用的主要治疗方法是手术、放疗和化疗,但患者的临床结果仍然很差^[3]。因此迫切需要探讨肝细胞癌发展的机制以寻找有效治疗肝细胞癌的方法。积雪草苷(asiaticoside, ASI)属三萜类化合物,是中药积雪草的主要活性化合物之一,主要有抗炎、抗氧化、抗纤维化等多种药理作用^[4]。ASI在一系列人类恶性肿瘤中显示出抗癌作用,因此提示ASI可能是一种具有抗肝细胞癌活性的潜在抗癌药物^[5]。研究证明环磷酸腺苷/蛋白激酶A/环磷酸腺苷反应成分结合蛋白(cyclic adenosine monophosphate response element binding protein/protein kinase/cAMP-response element binding protein, cAMP/PKA/CREB)通路在许多类型的人类肿瘤中起着促瘤作用,该通路的异常激活及其与其他信号通路的相互作用与肿瘤的发生、侵袭、转移和耐药密切相关^[6]。ZHANG等^[7]研究表明阻断cAMP-PKA-CREB信号通路可与阿司匹林在肝细胞癌中发挥抗肿瘤作用。本研究旨在探讨ASI在肝细胞癌中的抗肿瘤作用及相关机制。

1 材料与方法

1.1 动物及细胞来源

40只雄性BALB/c裸鼠,7周龄,体质量(20 ± 2)g,购自郑州市华兴实验动物养殖场[实验动物生产合格证号:SCXK(豫)2019-0002]。所有裸鼠在无特定病原体条件下饲养(温度25℃、湿度65%),随意获取食物和水。动物实验研究方案已取得滕州市中心医院伦理审查委员会的批准(No. 20190587)。

人肝细胞癌Huh7细胞自上海研域生物技术有限公司,用含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 mg/L链霉素的DMEM培养液,于37℃和5% CO₂培养箱中培养,每2~3 d传代一次。

1.2 主要材料、仪器

胎牛血清购自ThermoFisher Scientific公司, RIPA缓冲液、膜联蛋白V-FITC凋亡试剂盒均购自碧云天公司, cAMP激活剂弗斯可林(forskolin)购自

MCE公司, ASI、MTT试剂购自Sigma公司, 基质胶购自BD Biosciences, Transwell室均购自美国康宁公司, cAMP试剂盒、鼠抗PKA、CREB、p-PKA、p-CREB抗体均购自Abcam公司, 羊抗兔二抗购自Affinity公司。酶标仪购自Thermo Fisher公司, FluoView Fv 1000光学显微镜购自Olympus公司。

1.3 MTT法摸索ASI处理Huh7细胞的剂量及时间

取对数生长期的Huh7细胞,以不同浓度(0、10、20、40、80、160 μmol/L)的ASI处理细胞48 h,然后向每孔中加入20 μL MTT溶液,4 h后丢弃培养液,向每个孔中加入150 μL二甲基亚砷溶液,轻轻摇动以混合均匀。用酶标仪检测在450 nm处的光密度(D)值,计算细胞存活率:细胞存活率=试验组D值/对照组D值×100%。

取对数生长期Huh7细胞,以40 μmol/L的ASI进行处理细胞0、12 h、24 h、48 h、72 h,按照上述操作检测细胞存活率。

1.4 细胞分组及处理

将Huh7细胞(2×10^3 细胞/孔)接种于96孔板,根据不同的培养条件分为ASI低剂量(ASI-Low, ASI-L)组, ASI中剂量(ASI-Medium, ASI-M)组, ASI高剂量(ASI-High, ASI-H)组、ASI-H+Forskolin组和对照组。ASI-L组Huh7细胞在含20 μmol/L ASI培养基中处理48 h; ASI-M组细胞在含40 μmol/L ASI培养基中处理48 h; ASI-H组细胞在含80 μmol/L ASI培养基中处理48 h^[8]; ASI-H+Forskolin组细胞用100 μmol/L Forskolin、80 μmol/L ASI共处理48 h^[9];对照组加入与实验组相等体积的溶剂。每组设置6个复孔。

1.5 MTT法检测ASI对Huh7细胞增殖能力的影响

同1.3操作。

1.6 克隆形成实验检测ASI对Huh7细胞克隆形成能力的影响

将Huh7细胞接种到6孔板中,细胞贴壁后按1.4节所述分组处理细胞,14 d后出现肉眼可见细胞集落,用PBS清洗6孔板,4%多聚甲醛室温固定集落,然后在室温下用0.1%结晶紫染色,在光学显微镜下统计细胞集落数(超过50个细胞为一个集落)并拍照。

1.7 Transwell实验检测ASI对Huh7细胞迁移、侵袭能力的影响

侵袭实验需用Matrigel预涂在含有聚碳酸酯过

滤器的Transwell室,迁移实验无需此操作,其余步骤相同。收集1.4节方法处理后的Huh7细胞并重新悬浮在不含FBS的DMEM中,将100 μL细胞悬液(5×10^4 个/mL)接种到上室。随后在下室中添加含有20% FBS的600 μL DMEM培养基。培养12 h后,使用结晶紫进行染色,并从5个随机视野中计数迁移、侵袭的细胞数量。

1.8 细胞凋亡实验检测ASI对Huh7细胞凋亡的影响

Huh7细胞经1.4节方法处理后用胰蛋白酶消化,收集含有细胞并用PBS洗涤,按照膜联蛋白V-FITC凋亡试剂盒通过流式细胞术确定细胞凋亡变化。

1.9 ELISA法检测ASI对Huh7细胞分泌cAMP的影响

ELISA实验评估cAMP水平变化:收集处理后的细胞上清液,按照试剂盒说明书操作,检测Huh7细胞中cAMP水平。

1.10 WB法检测ASI对Huh7细胞PKA、CREB、p-PKA、p-CREB蛋白表达的影响

分组处理Huh7细胞后,弃去细胞培养液并用PBS清洗,在4 °C下用含有蛋白酶抑制剂的RIPA缓冲液裂解,提取各组细胞总蛋白。取等量蛋白样品,经10%SDS-PAGE分离、转膜、封闭后,加入相应蛋白的一抗在4 °C下过夜,洗膜后加入二抗溶液,最后用发光成像系统检测、Image J软件分析目标蛋白表达。

1.11 裸鼠移植瘤实验检测检测ASI对Huh7细胞裸鼠移植瘤生长的影响

将Huh7细胞(4×10^6 个/mL)悬浮在无血清培养基中,并皮下输注0.1 mL至裸鼠右腹部,建立肝细胞癌异种移植瘤模型,当肿瘤体积达到约50 mm³时,将裸鼠分为对照组、5 mg/kg ASI、15 mg/kg ASI和45 mg/kg ASI组。对照组给予等量的生理盐水;在前期预实验及参考文献[10]的基础上,5、15、45 mg/kg ASI以相应药物灌胃干预,连续4周,实验结束后,使用二氧化碳使裸鼠安乐死,分离肿瘤组织并称重。

1.12 统计分析

采用SPSS 26.0软件进行统计分析,符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步行SNK-q检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选合适的ASI及时间

采用0、10、20、40、80、160 μmol/L ASI处理Huh7细胞48 h后,检测结果(表1)显示IC₅₀约为40 μmol/L。因此,在后续实验中ASI-L、ASI-M和ASI-H组,分别用20、40和80 μmol/L ASI处理细胞。

以40 μmol/L ASI处理Huh7细胞0、12、24、48和

72 h,以Huh7细胞存活率接近50%的48 h为最佳作用时间(表2)。

2.2 ASI对Huh7细胞增殖及克隆数的影响

克隆形成实验及MTT法检测结果(图1)显示,分组加药处理48 h后,ASI-L组、ASI-M组、ASI-H组Huh7克隆数及细胞存活率均显著低于对照组(均 $P < 0.05$);ASI-H+Forskolin组Huh7细胞增殖率及克隆数均显著高于ASI-H组(均 $P < 0.05$)。

表1 不同浓度ASI对Huh7细胞存活的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	存活率(%)
0 μmol/L	92.77 ± 5.43
10 μmol/L	82.54 ± 8.44
20 μmol/L	72.32 ± 7.52*
40 μmol/L	51.05 ± 5.22*
80 μmol/L	34.07 ± 3.45*
160 μmol/L	15.24 ± 1.77*

与0 μmol/L ASI相比,* $P < 0.05$ 。

表2 不同处理时间下ASI对Huh7细胞存活的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	存活率(%)
0 h	93.24 ± 5.37
12 h	83.14 ± 8.37
24 h	78.32 ± 7.85*
48 h	50.11 ± 5.12*
72 h	18.22 ± 1.91*

与0 h相比,* $P < 0.05$ 。

2.3 ASI对Huh7细胞迁移、侵袭的影响

Transwell实验检测结果(图2)显示,分组加药处理48 h后,ASI-L组、ASI-M组、ASI-H组Huh7细胞迁移、侵袭细胞数均显著低于对照组(均 $P < 0.05$);ASI-H+Forskolin组Huh7细胞迁移、侵袭细胞数均显著高于ASI-H组(均 $P < 0.05$)。

2.4 ASI对Huh7细胞凋亡的影响

流式细胞术检测结果(图3)显示,分组加药处理48 h后,ASI-L组、ASI-M组、ASI-H组Huh7细胞凋亡水平均显著高于对照组(均 $P < 0.05$);ASI-H+Forskolin组Huh7细胞凋亡水平显著低于ASI-H组($P < 0.05$)。

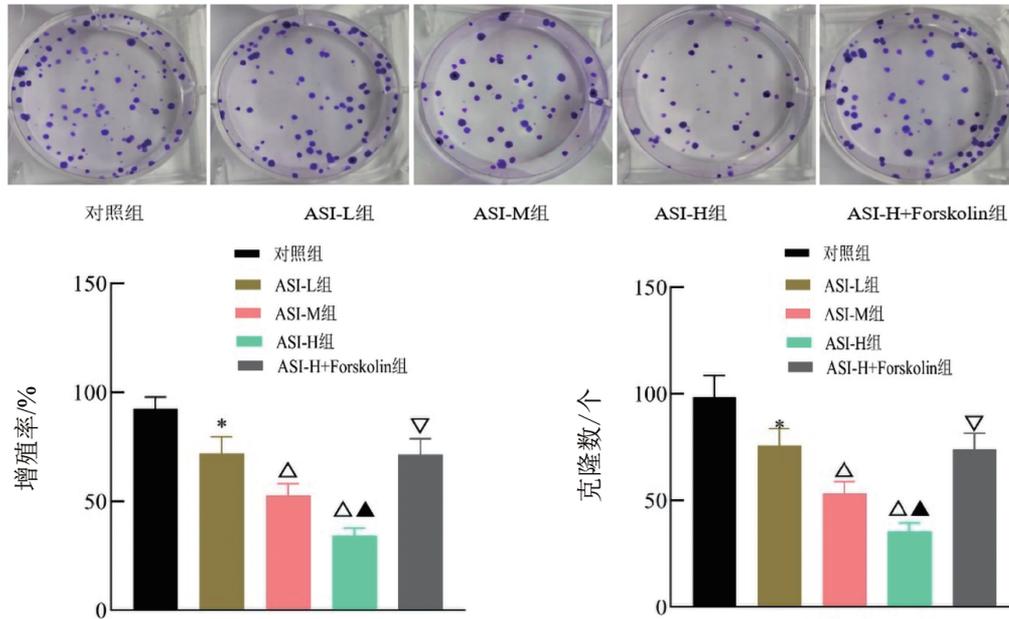
2.5 ASI对Huh7细胞cAMP水平影响

ELISA检测结果(表4)显示,分组加药处理48 h后,ASI-L组、ASI-M组、ASI-H组Huh7细胞

分泌 cAMP 水平均显著低于于对照组(均 $P < 0.05$); ASI-H+Forskolin 组 Huh7 细胞分泌 cAMP 水平高于 ASI-H 组($P < 0.05$)。

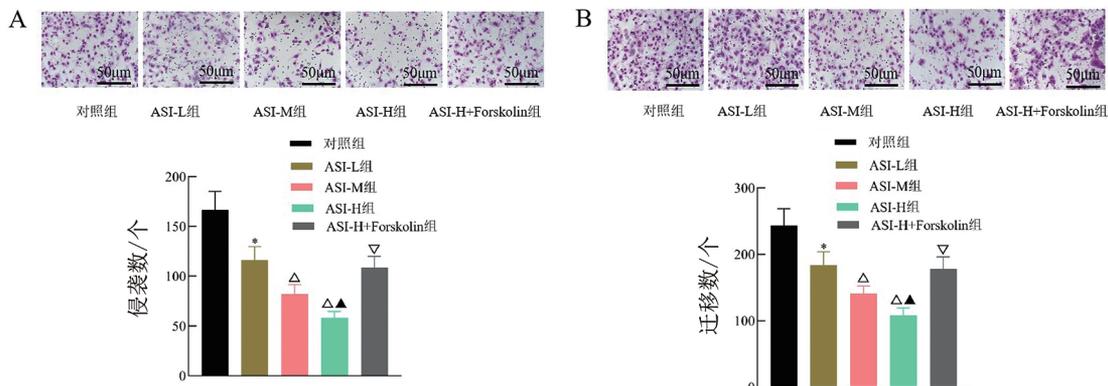
2.6 ASI 对 Huh7 细胞中 PKA、CREB 蛋白表达影响
WB 法检测结果(图 4)显示, ASI-L 组、ASI-M

组、ASI-H 组 Huh7 细胞 p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达均显著低于于对照组(均 $P < 0.05$); ASI-H+Forskolin 组 Huh7 细胞 p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 均显著高于 ASI-H 组(均 $P < 0.05$)。



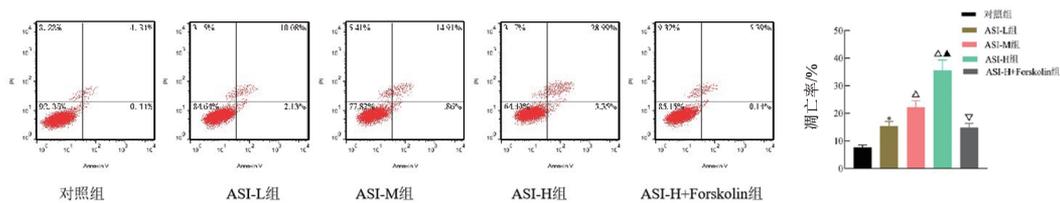
与对照组比较, $*P < 0.05$; 与 ASI-L 组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 ASI-M 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$; 与 ASI-H 组比较, $\nabla P < 0.05$ 。

图1 ASI和Forskolin处理对Huh7细胞增殖及克隆形成的影响



与对照组比较, $*P < 0.05$; 与 ASI-L 组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 ASI-M 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$; 与 ASI-H 组比较, $\nabla P < 0.05$ 。

图2 ASI和Forskolin处理对Huh7细胞侵袭(A)迁移(B)能力的影响



与对照组比较, $*P < 0.05$; 与 ASI-L 组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 ASI-M 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$; 与 ASI-H 组比较, $\nabla P < 0.05$ 。

图3 ASI和Forskolin处理对Huh7细胞凋亡的影响

2.7 ASI对肝癌异种移植裸鼠瘤生长的影响

裸鼠移植瘤实验结果(图5)显示,5、15、45 mg/kg ASI组裸鼠瘤质量均显著低于对照组(均 $P < 0.05$)。与对照组比较,* $P < 0.05$;与ASI-L组比较, $\Delta P < 0.05$;与ASI-M组比较, $\blacktriangle P < 0.05$;与ASI-H组比较, $\nabla P < 0.05$ 。

表4 比较Huh7细胞cAMP水平变化($\bar{x} \pm s, n = 6$)

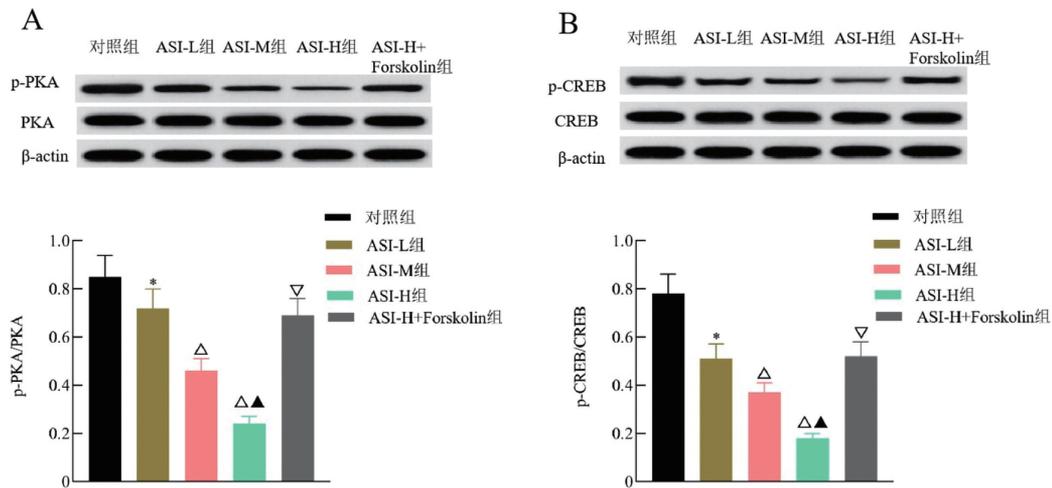
组别	cAMP/(nmol/L)
对照组	9.75±1.05
ASI-L组	7.11±0.74*
ASI-M组	5.24±0.55 Δ
ASI-H组	3.88±0.41 $\Delta\blacktriangle$
ASI-H+Forskolin组	7.05±0.72 ∇

3 讨论

HCC 常见于肝炎感染、非酒精性脂肪性肝病、晚期肝硬化或肝纤维化患者^[11]。近年来,尽管随着传统

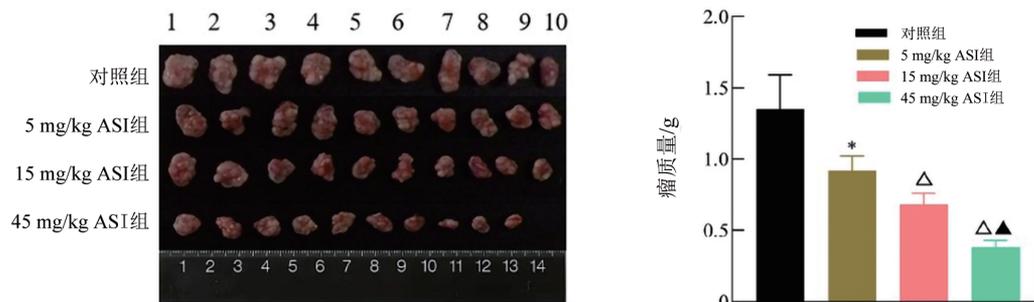
化疗的改进以及肝移植技术、外科肝切除的不断进步,但种治疗方法的效果仍不尽如人意^[12]。因此为改善患者预后,迫切需要开发新的治疗肝癌药物。

研究^[13]表明,中药对治疗包括肝细胞癌在内的多种癌症具有良好的效果,可提高肝细胞癌患者的整体生存期。积雪草是一种被广泛使用的中药,ASI是其主要活性化合物之一,表现出包括抗癌作用在内的广泛的药理活性^[14]。其在胰腺癌^[15]、鼻咽癌^[16]、宫颈癌^[17]中的抗癌作用均有报道。此外,研究^[18-20]发现ASI对各种肝脏疾病可以很好地发挥保护作用,如脂肪肝肝损伤、肝纤维化等。本研究发现,不同剂量的ASI均可抑制Huh7细胞增殖及克隆数、迁移、侵袭数,促进其凋亡,提示ASI可抑制Huh7细胞的恶性行为。MA等^[21]研究发现,ASI可诱导肝癌细胞QGY-7703和Bel-7402凋亡、抑制其增殖,表现出治疗肝细胞癌的潜力,但缺乏动物体内实验。本研究通过建立肝癌异种移植瘤模型,发现不同剂量的ASI均可抑制肝癌异种移植裸鼠瘤体生长。



与对照组比较,* $P < 0.05$;与ASI-L组比较, $\Delta P < 0.05$;与ASI-M组比较, $\Delta P < 0.05$;与ASI-H组比较, $\nabla P < 0.05$ 。

图4 ASI处理对Huh7细胞p-PKA/PKA(A)、p-CREB/CREB(B)表达的影响



与对照组比较,* $P < 0.05$;与5 mg/kg ASI组比较, $\Delta P < 0.05$;与15 mg/kg ASI组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

图5 ASI处理对Huh7细胞裸鼠移植瘤生长的影响

cAMP 信号通路在进化上是保守的, 在基因表达、生长、细胞分化以及增殖和凋亡的调节方面必不可少^[22-23]。在宫颈癌细胞中, 激活 cAMP/PKA 通路可促进癌细胞免疫逃逸及细胞增殖^[24]。本研究发现, ASI 处理后, Huh7 细胞分泌的 cAMP 水平显著降低, 提示 ASI 可能通过抑制 cAMP 可降低 Huh7 细胞恶性生物学行为。cAMP 下游效应物, 尤其是 CREB 的高表达和激活与最具侵袭性的肿瘤类型的发展和生存时间的降低有关^[25]。在妊娠高血压大鼠研究^[26]中, ASI 通过 cAMP/PKA 信号通路抑制炎症因子的表达, 缓解大鼠高压症状。本研究发现, ASI 可降低 cAMP/PKA/CREB 通路相关因子表达, 阻止 Huh7 细胞恶性生物学行为。以 cAMP 激活剂 Forskolin 进行验证, 结果发现 Forskolin 通过激活 cAMP/PKA/CREB 信号通路部分抵消了高剂量 ASI 对 Huh7 细胞恶性行为的抑制作用, 提示 ASI 通过抑制 cAMP/PKA/CREB 信号通路可阻止肝癌细胞的发生发展。

综上所述, ASI 可呈剂量依赖性抑制 Huh7 细胞增殖、克隆形成、迁移、侵袭能力, 诱导 Huh7 细胞凋亡, 可能与抑制 cAMP/PKA/CREB 信号通路有关, 进一步的体内实验表明 ASI 可剂量抑制肝癌异种移植裸鼠瘤体生长, 为 ASI 在肝细胞癌的治疗上提供实验依据。但其机制复杂, 后续研究中将在更多细胞中进一步探索。

[参 考 文 献]

- [1] JIANG L G, YE W C, LI Z B, *et al.* Anticancer effects of dihydromyricetin on the proliferation, migration, apoptosis and *in vivo* tumorigenicity of human hepatocellular carcinoma Hep3B cells [J/OL]. *BMC Complement Med Ther*, 2021, 21(1): 194 [2024-08-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34229692/>. DOI: 10.1186/s12906-021-03356-5.
- [2] 赵楷波, 陈达满, 陈正义, 等. 中医药结合化疗治疗原发性肝癌研究进展 [J]. *中西医结合肝病杂志*, 2024, 34(1): 93-96. DOI: 10.3969/j.issn.1005-0264.2024.001.024.
- [3] ZHU P T, LIU Z G, ZHOU J J, *et al.* Tanshinol inhibits the growth, migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells via regulating the PI3K-AKT signaling pathway [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 12: 87-99. DOI: 10.2147/OTT.S185997.
- [4] LI D K, WANG G H. Asiaticoside reverses M2 phenotype macrophage polarization-evoked osteosarcoma cell malignant behaviour by TRAF6/NF- κ B inhibition [J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 1635-1645. DOI: 10.1080/13880209.2022.2109688.
- [5] AL-SAEEDI F J. Asiaticoside increases caspase-9 activity in MCF-7 cells and inhibits TNF- α and IL-6 expression in nude mouse xenografts via the NF- κ B pathway [J/OL]. *Molecules*, 2023, 28(5): 2101 [2024-08-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36903346/>. DOI: 10.3390/molecules28052101.
- [6] ZHANG H Y, KONG Q B, WANG J, *et al.* Complex roles of cAMP-PKA-CREB signaling in cancer [J/OL]. *Exp Hematol Oncol*, 2020, 9(1): 32 [2024-08-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33292604/>. DOI: 10.1186/s40164-020-00191-1.
- [7] ZHANG H Y, YANG S P, WANG J, *et al.* Blockade of AMPK-mediated cAMP-PKA-CREB/ATF1 signaling synergizes with aspirin to inhibit hepatocellular carcinoma [J/OL]. *Cancers*, 2021, 13(7): 1738 [2024-08-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33917483/>. DOI: 10.3390/cancers13071738.
- [8] 吴倩, 江波. 积雪草苷对人骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡的影响 [J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(8): 2262-2267. DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.08.003.
- [9] XUE Y, SUN R, ZHENG W, *et al.* Forskolin promotes vasculogenic mimicry and invasion via Notch-1-activated epithelial-to-mesenchymal transition in syncytiolization of trophoblast cells in choriocarcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2020, 56(5): 1129-1139. DOI: 10.3892/ijo.2020.4997.
- [10] 栾慧杰, 何莲花, 何娟, 等. 积雪草苷对 DBA/1 小鼠胶原诱导型关节炎中 Th17/Treg 细胞表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(4): 76-83. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20220437.
- [11] XING Y, LIU Y, QI Z, *et al.* LAGE3 promoted cell proliferation, migration, and invasion and inhibited cell apoptosis of hepatocellular carcinoma by facilitating the JNK and ERK signaling pathway [J/OL]. *Cell Mol Biol Lett*, 2021, 26(1): 49 [2024-08-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34837962/>. DOI: 10.1186/s11658-021-00295-4.
- [12] ZHANG J L, SHANG L, JIANG W D, *et al.* Shikonin induces apoptosis and autophagy via downregulation of pyrroline-5-carboxylate reductase 1 in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 7904-7918. DOI: 10.1080/21655979.2022.2052673.
- [13] LIU X L, LI M G, WANG X H, *et al.* Effects of adjuvant traditional Chinese medicine therapy on long-term survival in patients with hepatocellular carcinoma [J/OL]. *Phytomedicine*, 2019, 62: 152930 [2024-08-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31128485/>. DOI: 10.1016/j.phymed.2019.152930.
- [14] LIU S, CHEN L, LI J R, *et al.* Asiaticoside mitigates Alzheimer's disease pathology by attenuating inflammation and enhancing synaptic function [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(15): 11976 [2024-08-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37569347/>. DOI: 10.3390/ijms241511976.
- [15] HE Y G, PENG X H, ZHENG L, *et al.* Asiaticoside inhibits epithelial-mesenchymal transition and stem cell-like properties of pancreatic cancer PANC-1 cells by blocking the activation of p65 and p38MAPK [J]. *J Gastrointest Oncol*, 2021, 12(1): 196-206. DOI: 10.21037/jgo-20-533.
- [16] 李林, 付盈盈, 司应明. 积雪草苷通过 Vimentin/NLRP3 通路诱导鼻咽癌细胞凋亡研究 [J]. *蚌埠医学院学报*, 2022, 47(3): 293-296, 301. DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2022.03.004.
- [17] 江彬, 周倩, 卢柳媚, 等. 羟基积雪草苷对入宫颈癌细胞 C-33A/CaSki 细胞凋亡的影响 [J]. *中医临床研究*, 2019, 11(21): 78-80. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2019.21.034.
- [18] 秦慧真, 林思, 邓玲玉, 等. 积雪草苷的药理作用及机制研究进展 [J]. *中国药房*, 2021, 32(21): 2683-2688. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.21.21.
- [19] 陈靓, 刘三世, 吴春明. 积雪草苷对神暴露所致小鼠脂肪肝损伤的保护作用研究 [J]. *中国地方病防治*, 2022, 37(2): 101-103.
- [20] 汪燕, 王立志, 王运东, 等. 积雪草苷抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路

- 对乙型肝炎模型大鼠肝纤维化的影响[J]. 传染病信息, 2022, 35 (6): 496-501. DOI:10.3969/j.issn.1007-8134.2022.06.004.
- [21] MA Y, WEN J, WANG J, *et al.* Asiaticoside antagonizes proliferation and chemotherapeutic drug resistance in hepatocellular carcinoma (HCC) cells[J/OL]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e924435 [2024-08-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32862187/>. DOI: 10.12659/MSM.924435.
- [22] YUE W, MA J H, XIAO Y N, *et al.* The apoptotic resistance of BRCA1-deficient ovarian cancer cells is mediated by cAMP[J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 889656 [2024-08-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35517499/>. DOI:10.3389/fcell.2022.889656.
- [23] ROBICHAUX W G 3rd, CHENG X D. Intracellular cAMP sensor EPAC: physiology, pathophysiology, and therapeutics development[J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(2): 919-1053. DOI:10.1152/physrev.00025.2017.
- [24] 宋雪, 罗福申, 杨光润, 等. CRH通过CRHR1激活cAMP/PKA通路调节宫颈癌细胞的免疫逃逸和促进宫颈癌生长[J]. *免疫学杂志*, 2021, 37(2): 159-165. DOI:10.13431/j.cnki.immunol.j.20210024.
- [25] WON S Y, PARK J J, SHIN E Y, *et al.* PAK4 signaling in health and disease: defining the PAK4-CREB axis[J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51 (2): 1-9. DOI:10.1038/s12276-018-0204-0.
- [26] 牛佳, 马琦, 巨霞. 积雪草苷调节cAMP/PKA信号通路对妊娠高血压大鼠的改善作用研究[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2024, 32(2): 247-254. DOI:10.13404/j.cnki.cjbhh.2024.02.025.
- [收稿日期] 2024-08-01 [修回日期] 2025-01-11
[本文编辑] 黄静怡