

蛇床子素对小鼠肝癌细胞 Hepal-6 自噬的影响*

姚 霏^{1,2},袁 琴^{1,2},许 恒^{1,2},张露蓉^{1,2,Δ}

1 南京中医药大学附属苏州市中医医院,江苏 苏州 215000; 2 苏州市吴门医派研究院,江苏 苏州 215000

[摘要] 目的:探讨蛇床子素对肝癌细胞自噬的影响。方法:通过体外实验,应用四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazdium,MTT)法观察蛇床子素对 Hepal-6 小鼠肝癌细胞增殖抑制的影响,单丹磺酰尸胺(dansylcadaverine,MDC)染色法观察肝癌细胞自噬情况,免疫印迹法(Western blotting,WB)观察肝癌细胞自噬蛋白 LC3 和 Beclin-1 的表达情况。结果:MTT 结果显示,蛇床子素能时间、剂量依赖性抑制 Hepal-6 小鼠肝癌细胞增殖($P < 0.05$);MDC 染色结果显示,蛇床子素能促进 Hepal-6 细胞自噬体增加;WB 结果显示,蛇床子素能增加 LC3-II/LC3-I 的表达比值,上调 Beclin-1 表达($P < 0.05$)。结论:蛇床子素能抑制 Hepal-6 小鼠肝癌细胞增殖,促进其自噬体聚集,调控自噬蛋白表达。

[关键词] 肝癌细胞;Hepal-6;小鼠;自噬;蛇床子素**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)05-0005-05

The Effects of Osthole on the Autophagy of Murine HCC Hepal-6

YAO Fei^{1,2}, YUAN Qin^{1,2}, XU Heng^{1,2}, ZHANG Lurong^{1,2,Δ}

1 Suzhou TCM Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Suzhou 215000, China;

2 Suzhou Academy of Women Chinese Medicine, Suzhou 215000, China

Abstract Objective: To discuss the influence of osthole on cellular autophagy of hepatoma carcinoma cell (HCC). Methods: MTT method was applied to observe the inhibitory effects of osthole on the proliferation of murine HCC Hepal-6 via *in-vitro* experiments, MDC staining was used observe the autophagy of HCC, and WB to survey the expressions of HCC autophagy proteins LC3 and Beclin-1. Results: MTT results showed that osthole could inhibit the proliferation of murine HCC Hepal-6 in time-dependent and dose-dependent manner ($P < 0.05$); MDC staining displayed that osthole could add autophagosome in Hepal-6 cells; WB results revealed that the medicine could lift the ratio of LC3-II/LC3-I, and upregulate the expressions of Beclin-1 ($P < 0.05$). Conclusion: Osthole could inhibit the proliferation of murine hepatoma carcinoma cells hep1-6, promote the accumulation of autophagosomes and regulate the expression of autophagy proteins.

Keywords hepatoma carcinoma cell; Hepal-6; mice; autophagy; osthole

全球范围内,肝癌是最常见的第七大癌症^[1]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,HCC)是原发性肝癌的主要类型,约占总数的75%,占有肿瘤比例的4.7%左右^[2]。世界上发病率最高的是亚洲和非洲,由于我国发病率上升(每100 000人中有18.3人)和世界第二的人口数量(14亿人),故我国的病例数量庞大^[1]。肝癌的五年生存率为18%,2018年诊断出近841 000例新HCC病例,死亡78万人,其死亡率位于所有肿瘤的第三位,是一种全球公共卫生负担较重的疾病^[2]。

自噬(源自希腊语的自食),是一种保存在真核生物中的细胞内降解系统,通过降解各种物质(包括蛋白质、无膜/膜结合细胞器,甚至入侵微生物),控制细胞内废物的处置,包括受损细胞器或入侵的病原体,实现细胞器更新,促进细胞内稳态,是一个高度保守过程,也是细胞存活的关键过

程^[3-4]。自噬参与多种功能和疾病,从病毒颗粒传播到神经退行性疾病、从癌症发展到免疫疾病等^[5-6]。在肝癌发生及晚期阶段,肿瘤细胞通过降低自噬行为,为自身生长提供营养,从而减少肿瘤细胞的自噬性死亡^[7];因此,细胞自噬调控异常与肝癌的发生发展密切相关^[8],是肝癌发生发展的关键因素之一,如何调控自噬,减少肝癌的发生发展是防治肝癌的有效手段。

蛇床子素属简单香豆素类,来源于苯丙烷途径,是可从多种中草药提取得到的一种具备生物活性的香豆素衍生物。具有广泛药理作用,如神经保护、解痉、免疫调节、保肝等,在抗肿瘤方面主要具有细胞周期抑制、凋亡诱导、抗血管生成、抑制转移、克服化疗耐药性等^[9-13]。本研究旨在观察蛇床子素与肝癌 Hepal-6 细胞共同作用后,对自噬相关蛋白表达的影响,为拓展蛇床子素抗肿瘤

作用的新途径奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 细胞株 小鼠肝癌细胞株 Hepa1-6 由苏州大学刘海燕实验室惠赠。

1.2 试剂与药物 Gibco DMEM 培养基(赛默飞世尔科技公司,批号:2105341);胰蛋白酶(Biosharp 生物科技有限公司,批号:201903);胎牛血清(浙江天杭生物科技有限公司,批号:19070505);3-甲基腺嘌呤(3-MA,上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:A2115244);细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法,北京索莱宝科技有限公司,批号:20210430);SuperECL Plus 超敏发光液(北京索莱宝科技有限公司,批号:20200917);MTT(广州赛国生物科技有限责任公司,批号:EZ2811A179);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术研究,批号:120720210514);蛇床子素(HPLC \geq 99%,中国食品药品检定研究院,批号:110822-200305)。LC3A/B(D3U4C)XP Rabbit mAb(批号:0004)、Beclin-1(D40C5)Rabbit mAb(批号:0006)、GAPDH(D16H11)XP Rabbit mAb(批号:F104259)均购自美国 CST 中国分公司赛信通(上海)生物试剂有限公司,其他试剂均为市售分析纯。

1.3 仪器 HERAce®150 型二氧化碳培养箱(美国科峻仪器公司);SpectraMax M2e 微孔板检测系统酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);Ts2R 荧光倒置显微镜(日本尼康);BG-Power 600 电源、BG-verMINI 电泳仪、BG-blot-MINI 转移槽均购自北京百晶生物技术有限公司;HD2 荧光可见光成像系统(美国 ProteinSimple 公司),BY-R20 型台式高速冷冻离心机(北京白洋医疗器械有限公司)。

1.4 方法

1.4.1 细胞培养 Hepa1-6 小鼠肝癌细胞株,用含血清的 DMEM 培养,其中血清为胎牛血清,含量为 10%,于 37 °C,5%CO₂ 培养条件培养,取对数生长期、活力旺盛的 Hepa1-6 细胞用于实验。

1.4.2 药液配制 蛇床子素使用前用 DMSO 溶解,用 DMEM 培养液(10%胎牛血清)稀释备用,控制 DMSO 在溶液中的比例小于 0.5%;顺铂(10 mg/瓶)用 1 mL PBS 溶解为母液,用 DMEM 培养液(10%胎牛血清)稀释备用。

1.4.3 细胞生长抑制率测定 Hepa1-6 小鼠肝癌细胞,按 2.5×10^4 /mL,每孔 100 μ L 接种于 96 孔培养板,培养贴壁 24 h 后,按实验组别依次加入终浓度为 10、20、30、40、50 μ g/mL 的蛇床子素,对照组为药物溶剂组,阳性对照组为顺铂(DDP,

50 μ g/mL),给药处理 24、48、72 h,每组复孔为 8 个。常规四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium,MTT)法检测,检测波长为 490 nm。

细胞生长抑制率(%)=(1-实验组 A 值/对照组 A 值) \times 100%

1.4.4 自噬的单丹磺酰尸胺(dansylcadaverine,MDC)染色观察 Hepa1-6 小鼠肝癌细胞,按 2×10^5 /mL,每孔 2 mL 接种于 6 孔培养板,培养贴壁 24 h,实验组别为蛇床子素 30 μ g/mL,3-MA(自噬抑制剂)0.75 mg/mL,蛇床子素 30 μ g/mL+3-MA 0.75 mg/mL,对照组为药物溶剂组,培养 48 h,每组 3 个复孔。细胞 MDC 染色步骤按试剂盒说明书操作,染色结束用荧光显微镜观察并拍摄记录。

1.4.5 自噬蛋白表达蛋白印迹法检测 Hepa1-6 小鼠肝癌细胞,按 2×10^5 /mL,每孔 2 mL 接种于 6 孔培养板,培养贴壁 24 h,实验组别为蛇床子素(终浓度为 20、30、40 μ g/mL),3-MA(自噬抑制剂)0.75 mg/mL,蛇床子素 30 μ g/mL+3-MA 0.75 mg/mL,对照组为药物溶剂组,培养 48 h,每组 3 个复孔。收集给药后的细胞,用 Western 及 IP 细胞裂解液在冰上处理 30 min,后将裂解物在 4 °C 以半径 8.5 cm,12 000 r/min 离心 10 min(BY-R20 型台式高速冷冻离心机,角转子参数),收集上清液。对获得蛋白进行定量。WB 常规操作,蛋白上样量为 50 μ g,一抗抗体为 LC3A/B(D3U4C)和 Beclin-1(D40C5),抗体稀释比例按说明书要求稀释。用荧光增强剂 ECL 显影,用荧光可见成像系统拍照。拍照条带分析用 Image J 软件,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde3-phosphate dehydrogenase,GAPDH)为内参标准。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件分析数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

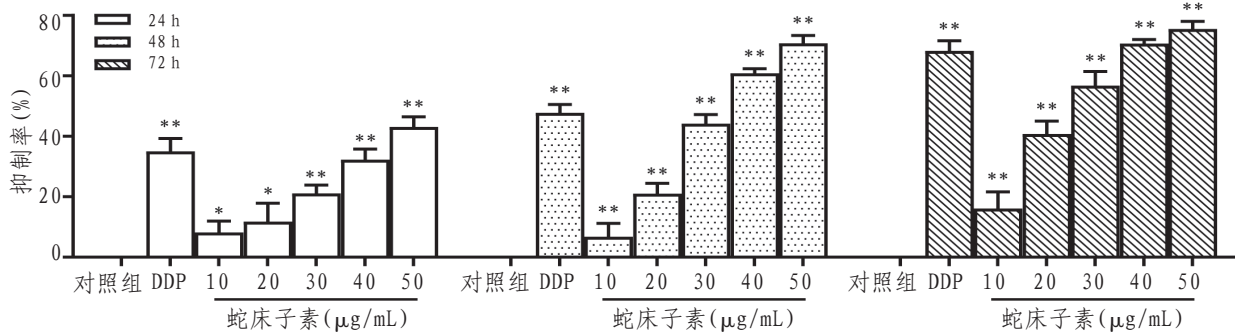
2.1 蛇床子素对 Hepa1-6 增殖抑制作用 蛇床子素对 Hepa1-6 肝癌细胞增殖有抑制作用,且有剂量依赖性(作用 48 h,蛇床子素抑制率从 6.80% 增加到 70.79%),并随给药时间增加抑制率增加(30 μ g/mL 剂量,作用 24 h 抑制率为 21.14%;作用 48 h 抑制率为 44.17%;作用 72 h 抑制率为 56.82% ($P < 0.01$)。同时选择蛇床子素浓度 30 μ g/mL,作用 48 h 为后续实验条件。见图 1。

2.2 蛇床子素对 Hepa1-6 自噬作用 与对照组比较,蛇床子素组细胞内绿色荧光显著增加,提示有较多自噬体形成;3-MA 是自噬抑制剂,故绿色荧光减弱。与蛇床子素组比较,蛇床子素+3-MA

组绿色荧光面积减弱。见图2。

2.3 蛇床子素对Hepa1-6自噬蛋白的作用 蛇床子素处理Hepa1-6细胞48 h后,与对照组比较,自噬相关蛋白LC3-I与LC3-II蛋白表达随蛇床子素浓度的增加而增加,LC3-II/LC3-I比值和Beclin-1表达随蛇床子素浓度的增加而增加($P < 0.01$),见

图3A。经3-MA处理后的Hepa1-6细胞,LC3-II蛋白水平减少,LC3-II/LC3-I比值和Beclin-1表达减少($P < 0.05$);与蛇床子素组比较,蛇床子素+3-MA组LC3-II蛋白水平减少,LC3-II/LC3-I比值和Beclin-1表达减少($P < 0.01$),见图3B。



注:与对照组比较,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$

图1 蛇床子素对Hepa1-6增殖抑制作用

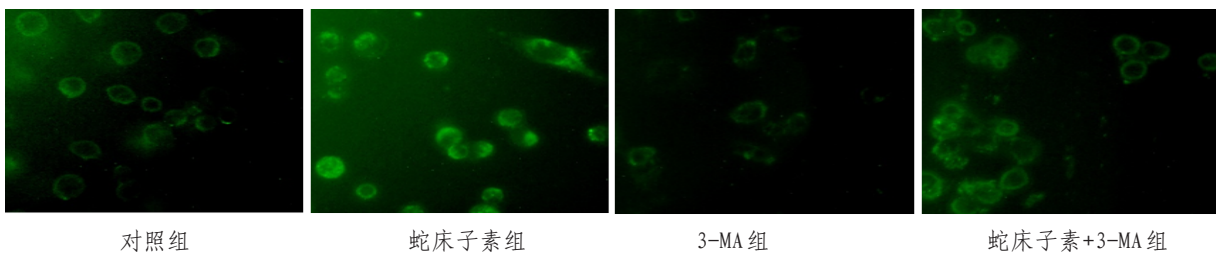
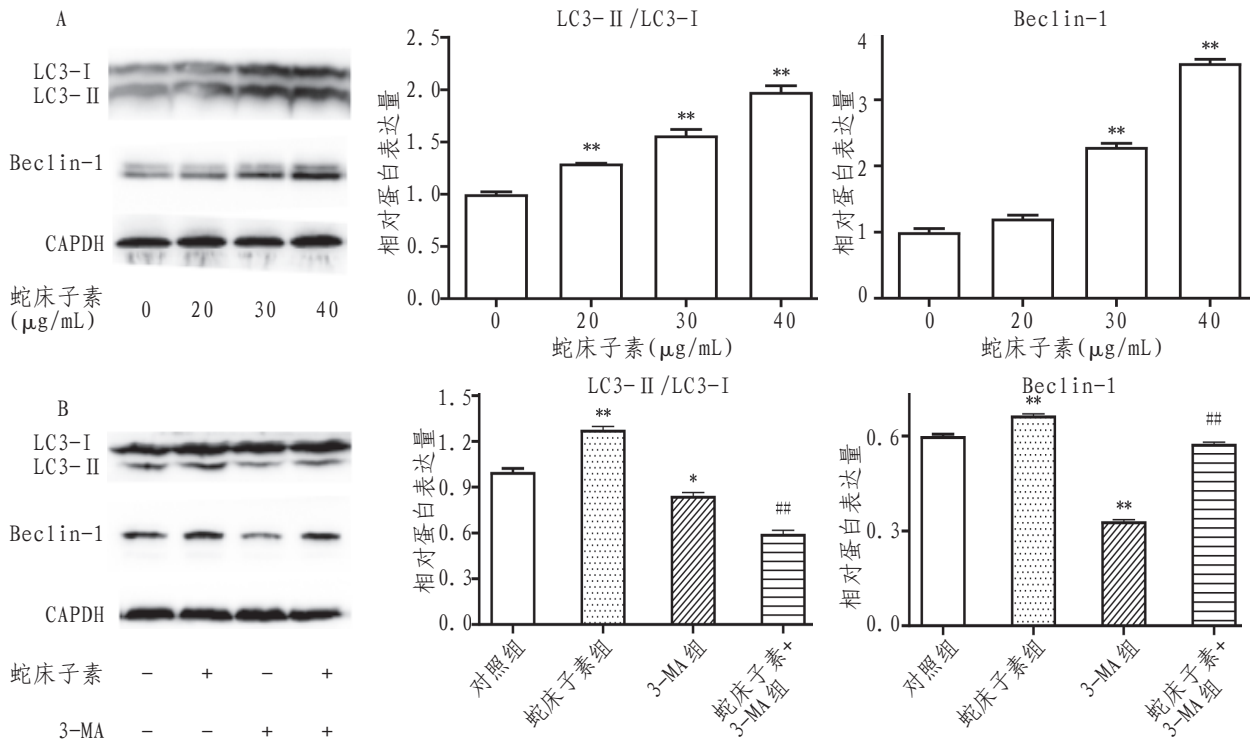


图2 蛇床子素对Hepa1-6自噬作用(MDC染色, × 200)



注:与对照组比较,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$;与蛇床子素组比较,##表示 $P < 0.01$

图3 蛇床子素对Hepa1-6自噬蛋白的作用

3 讨论

中药具有靶点多、副作用小、疗效好的特点。中药方剂、中成药、单味中药和中药单体复方在抗肿瘤方面均表现良好,例如调节免疫功能、抑制肿瘤转移、加速肿瘤细胞死亡和降低肿瘤细胞耐药性等。临床上,中医药能提高患者生存率,延长生存期,改善生活质量,中药在防治肿瘤方面具有一定优越性^[14]。而一些如香豆素类中草药分子化合物,已经证实有一定抗肝癌作用^[15]。我们前期实验结果显示,蛇床子素能有效抑制肝癌细胞株 HepG2、SMC-7721、SK-HEP-1 增殖,阻滞细胞周期,引起细胞凋亡;对肝癌 BALB/c 裸鼠和 C57 种肝癌 Hepa1-6 小鼠实体瘤、原位瘤具有抑制生长的作用^[16-17]。为进一步研究蛇床子素的抗肝癌机理,本研究探讨了蛇床子素对肝癌细胞自噬的作用,结果发现,蛇床子素能抑制 Hepa1-6 肝癌细胞增殖。通过 MDC 法染色观察,发现未给药 Hepa1-6 细胞形态正常,细胞未有明显被染成绿色荧光。而 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 蛇床子素作用 48 h 后,细胞大量被染成绿色荧光,荧光信号增加,说明有自噬体聚集,证明蛇床子素可以激活 Hepa1-6 细胞自噬。

自噬作为一种 II 型程序性细胞死亡,包括诱导、吞噬体形成、自噬体形成、自溶体形成和降解,与自噬相关蛋白 (autophagy related gene, ATG) 在癌症中起至关重要作用。LC3 (酵母中的 Atg8),是可溶性蛋白,分子量约为 17 kDa。前体 proLC3 蛋白被哺乳动物 ATG4B 蛋白酶切割成具有 C-末端甘氨酸残基的 LC3-I;在哺乳动物 ATG7 和 ATG3 同系物的催化下,细胞溶质 LC3-I 随后被 E1 酶 ATG7 激活并转移到 E2 酶 ATG3,最后通过与脂质磷脂酰乙醇胺 (PE) 的氨基结合而修饰为膜结合蛋白 LC3-II。LC3-I 和 LC3-II 的泛素化系统参与了自噬体的组装与形成^[18],因此,LC3-I 与 LC3-II 的转化水平是自噬的重要标志,LC3-II/I 比率的大小可判断自噬水平高低^[19-20]。本研究结果显示,用 20、30、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的蛇床子素作用 Hepa1-6 细胞 48 h 后,自噬相关蛋白 LC3-I 与 LC3-II 蛋白表达随蛇床子素浓度的增加而增加,且 LC3-II/I 比值也增加 ($P < 0.05$),提示蛇床子素可诱导 Hepa1-6 自噬体形成。Beclin-1 (酵母中 Atg6) 是 PI3K/Vps34 III 类复合物的的重要组成部分,Beclin 1-Vps34 复合物激酶的激活促进自噬体成熟,是自噬过程的关键步骤^[21]。本研究结果显示,用 20、30、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度蛇床子素作用 Hepa1-6 细胞 48 h 后,Beclin-1 蛋白表达随蛇床子素浓度的增加而增加 ($P < 0.05$)。给予自噬抑制剂

3-MA 或蛇床子素与 3-MA 联用后,LC3-II/LC3-I 比值和 Beclin-1 表达均减少 ($P < 0.05$)。上述结果提示,蛇床子素可增加 Hepa1-6 细胞自噬体数量,调控自噬的活性,具有调控 Hepa1-6 细胞自噬的能力。

有研究发现在缺氧环境中,近半数肿瘤细胞的自噬活动明显增加^[22];在一项关于 156 名肝癌患者的研究中发现,自噬标志物 LC3B 水平升高与预后不佳相关,较高水平的 LC3-II 与淋巴结转移、较高的血管浸润和 5 年生存率降低相关^[23];Beclin-1 在肝癌组织高表达,与 LC3 表达、肿瘤浸润等呈明显正相关^[24]。这与本实验结果相反,与这些研究比较,发现自噬在肝癌进展中呈现出一种双向作用,既有促进肝癌作用,亦有抑制肝癌作用。因此,解析不同肝癌状态下自噬的生物学效应对寻找有效抗肝癌药物至关重要。3-MA 是自噬抑制剂,其原理是阻断线粒体的募集从而抑制自噬体形成,进而抑制细胞的自噬反应^[25]。MDC 染色结果表明,3-MA 处理的 Hepa1-6 细胞绿色荧光较对照组少;与单独给予蛇床子素组比较,3-MA 与蛇床子素联用组绿色荧光面积减弱,提示蛇床子素促进自噬的能力被 3-MA 减弱。WB 实验中也出现了相似情况,单用 3-MA 组 LC3-II/LC3-I 比值和 Beclin-1 表达减少;3-MA 与蛇床子素联用组与单用蛇床子素组比较,LC3-II/LC3-I 比值和 Beclin-1 表达减弱,提示蛇床子素调控 Hepa1-6 自噬的能力被 3-MA 减弱。

哺乳动物磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol 3-hydroxykinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT)/雷帕霉素靶点 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路是细胞内自噬的重要途径之一,在多种肿瘤中被组成性激活调控 mTOR 的磷酸化水平,并调控分解代谢途径,如溶酶体生物发生和自噬^[26-28]。最近研究发现,敲除 PI3K/AKT/mTOR 可抑制肝癌细胞增殖和迁移,表明抑制 PI3K/AKT/mTOR 可能是肝癌治疗的有效分子靶点,阻断该信号可诱导自噬发生并有助于肝癌抑制^[29]。前期研究发现蛇床子素有效抑制肝癌细胞增殖,引起凋亡机制与抑制 PI3K/AKT 通路的激活有关^[30],因此推测,蛇床子素促进肝癌细胞自噬与 PI3K/AKT/mTOR 信号传导通路有关,这是我们下一步的研究目标。

参考文献

- [1] FREDDIE B, JACQUES F, ISABELLE S, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] MCGLYNN K A, PETRICK J L, EL-SERAG H B. Epidemiology

- of hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2021, 73(Suppl 1):4-13.
- [3] FUJIOKA Y, NODA N N. Biomolecular condensates in autophagy regulation[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2021: 69:23-29.
- [4] SCIARRETTA S, YEE D, AMMANN P, et al. Role of NADPH oxidase in the regulation of autophagy in cardiomyocytes[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 128(7):387-403.
- [5] WON S J, YEN C H, LIU H S, et al. Justicidin A-induced autophagy flux enhances apoptosis of human colorectal cancer cells via class III PI3K and Atg5 pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(4):930-946.
- [6] MERABOVA N, SARIYER I K, SARIBAS A S, et al. WW domain of BAG3 is required for the induction of autophagy in glioma cells[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(4):831-841.
- [7] KOUROUMALIS E, VOUMVOURAKI A, AUGOUSTAKI A, et al. Autophagy in liver diseases[J]. *World J Hepatol*, 2021, 13(1):6-65.
- [8] 曹建, 魏润杰, 邓茹芸, 等. 细胞自噬与肝细胞癌病理机制和药物研究现状[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(23): 3129-3133.
- [9] SHOKOONIA Y, JAFARI F, MOHAMMADI Z, et al. Potential anticancer properties of osthol: a comprehensive mechanistic review[J]. *Nutrients*, 2018, 10(1):36.
- [10] RIVIERE C, GOOSSENS L, POMMERY N, et al. Antiproliferative effects of isopentenylated coumarins isolated from *Pheillophium madagascariense* Baker[J]. *Nat Prod Res*, 2006, 20(10):909-916.
- [11] XU X, ZHANG Y, QU D, et al. Osthol induces G₂/M arrest and apoptosis in lung cancer A549 cells by modulating PI3K/Akt pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30(1):33.
- [12] CHOU S Y, HSU C S, WANG K T, et al. Antitumor effects of Osthol from *Cnidium monnieri*: an *in vitro* and *in vivo* study[J]. *Phytother Res*, 2007, 21(3): 226-230.
- [13] 潘志强, 王晓敏, 钱宏梁, 等. 蛇床子素诱导内质网应激抑制 SMMC7721 人肝癌细胞增殖的机制研究[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2019, 21(8):1694-1701.
- [14] WANG K, CHEN Q, SHAO Y, et al. Anticancer activities of TCM and their active components against tumor metastasis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133:111044.
- [15] LI Y, MARTIN R C G 2nd. Herbal medicine and hepatocellular carcinoma: applications and challenges[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 541209.
- [16] ZHANG L, JIANG G, YAO F, et al. Growth inhibition and apoptosis induced by osthole, a natural coumarin, in hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5):37865.
- [17] YAO F, ZHANG L, JIANG G, et al. Osthole attenuates angiogenesis in an orthotopic mouse model of hepatocellular carcinoma via the downregulation of nuclear factor- κ B and vascular endothelial growth factor[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(4):4471-4479.
- [18] LI X, HE S, MA B. Autophagy and autophagy-related proteins in cancer[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):12.
- [19] 廖艺楠, 冯洁. 氯化两面针碱对肝癌细胞 Be1-7402 自噬的影响[J]. *广西医科大学学报*, 2021, 38(5):989-993.
- [20] 刘杉珊, 李薇. 自噬现象及其分子机制的研究进展[J]. *中外健康文摘*, 2011, 8(8):448-451.
- [21] 黄蓉, 韦曦. 自噬效应蛋白 Beclin1 的研究进展[J]. *中外医学研究*, 2011, 9(28):159-161.
- [22] 王沐淇, 李亚萍, 刘拉羊, 等. 自噬在肝细胞癌发生发展和免疫治疗调控中的作用及其机制[J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(5):1129-1134.
- [23] WU D H, JIA C C, CHEN J, et al. Autophagic LC3B overexpression correlates with malignant progression and predicts a poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(12):12225-12233.
- [24] 张鹏, 苗玉荣. 原发性肝癌细胞癌相关分子机制研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(24):6153-6156.
- [25] ARICO S, PETIOT A, BAUVY C, et al. The tumor suppressor PTEN positively regulates macroautophagy by inhibiting the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(38): 35243-35246.
- [26] TANG H, LI R P, LIANG P, et al. MiR-125a inhibits the migration and invasion of liver cancer cells via suppression of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(2):681-686.
- [27] RODON J, DIENSTMANN R, SERRA V, et al. Development of PI3K inhibitors: lessons learned from early clinical trials[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(3): 143-153.
- [28] ZHOU Z W, LI X X, HE Z X, et al. Induction of apoptosis and autophagy via sirtuin1-and PI3K/Akt/mTOR-mediated pathways by plumbagin in human prostate cancer cells [retraction][J]. *Drug Des Devel Ther*, 2022, 16:2437-2438.
- [29] LIU L, LIAO J Z, HE X X, et al. The role of autophagy in hepatocellular carcinoma: friend or foe[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(34):57707-57722.
- [30] 张露蓉. 蛇床子素(osthole)对肝细胞肝癌的抑制作用及其机制研究[D]. 苏州:苏州大学, 2013.

收稿日期:2024-05-13

*基金项目:苏州市民生科技项目(SYSD2020214,SYSD2020188)。

作者简介:姚霏(1985—),女,副主任中药师。研究方向:中药与肿瘤免疫。

△通讯作者:张露蓉(1973—),女,博士学位,主任中药师。研究方向:中药与肿瘤免疫。Email:fyy00571@njucm.edu.cn。