

# 氧化苦参碱调节NS5ATP13对人肝母细胞瘤HepG2细胞系增殖及凋亡的作用机制

尹玥<sup>1</sup>, 韩铭<sup>2</sup>, 朱晓宁<sup>1</sup>, 张玉蓉<sup>1</sup>, 成军<sup>2</sup>, 汪静<sup>1</sup> (1.西南医科大学附属中医医院 肝胆病科, 四川 泸州 646000; 2.首都医科大学附属北京地坛医院 研究所/新发突发传染病研究北京市重点实验室, 北京 100015)

**摘要:** 目的 探讨氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)与HCV NS5A蛋白反式激活基因13(HCV NS5A trans-regulated protein 13, NS5ATP13)的关系及对肝母细胞瘤细胞系HepG2增殖凋亡的影响及其作用机制。方法 在HepG2细胞中分别加入OMT、转染NS5ATP13过表达载体(pNS5ATP13)和小干扰RNA(siNS5ATP13)及各自的阴性对照,检测细胞活力、愈合速度、迁移及侵袭程度、Caspase-3/7表达水平及增殖凋亡相关蛋白的表达。结果 ①OMT能抑制HepG2细胞增殖,促进HepG2细胞凋亡,下调NS5ATP13;②过表达NS5ATP13能促进HepG2细胞的增殖、迁移;干扰NS5ATP13能促进HepG2细胞凋亡;③将NS5ATP13干扰后加入OMT能显著抑制细胞增殖、迁移,并抑制AKT/GSK/mTOR信号转导通路。结论 OMT可能通过下调NS5ATP13抑制AKT/GSK/mTOR信号转导通路,诱导人肝母细胞瘤HepG2细胞系的凋亡。

**关键词:** 氧化苦参碱; NS5ATP13; HepG2; 增殖; 凋亡

## Mechanism of oxymatrine regulating the proliferation and apoptosis of human hepatoblastoma HepG2 cell line inhibited by NS5ATP13

YIN Yue<sup>1</sup>, HAN Ming<sup>2</sup>, ZHU Xiao-ning<sup>1</sup>, ZHANG Yu-rong<sup>1</sup>, CHENG Jun<sup>2</sup>, WANG Jing<sup>1</sup> (1.Department of Hepatobiliary Diseases, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China; 2.Institute of Infectious Diseases/Beijing Key Laboratory of Emerging Sudden Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between oxymatrine (OMT) and HCV NS5A trans-regulated protein 13 (NS5ATP13) and their effects on proliferation and apoptosis of human hepatoblastoma cell line HepG2. **Methods** OMT, NS5ATP13 overexpression vector (pNS5ATP13), small interfering RNA (siNS5ATP13) and their respective negative controls were added to HepG2 cells, respectively, to detect the changes in cell viability (CCK-8), healing rate (scratches), migration and invasion (invasion and migration experiments), Caspase-3/7 expression levels, and expression of proliferation and apoptosis related genes. **Results** ①OMT could inhibit the proliferation and promote the apoptosis of HepG2 cells, and also down-regulate NS5ATP13 in HepG2 cells. ②Overexpression of NS5ATP13 could promote the proliferation and migration of HepG2 cells; while NS5ATP13 silencing could promote the apoptosis of HepG2 cells. ③After NS5ATP13 silencing, OMT could significantly modulate the proliferation, migration and AKT/GSK/mTOR signaling pathway in HepG2 cells. **Conclusion** OMT may induce the apoptosis of human hepatoblastoma HepG2 cell line by down-regulating NS5ATP13 and AKT/GSK/mTOR signaling pathway.

**Key words:** Oxymatrine; NS5ATP13; HepG2; Proliferation; Apoptosis

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2019.02.001

项目基金: 国家自然科学基金面上项目(81670547、81470863); 国家重点研发计划第四课题(2017YFC0908104); 北京市医院管理局(DFL20151701); 国家“十二五”传染病重大专项子任务(2015ZX10004801-001-002); 西南医科大学一般项目(2018-ZRQN-153); 四川省科技厅重点研发项目(2019YFS0018)

通讯作者: 汪静 Email: lywj68@126.com

肝癌是世界上六大常见癌症之一<sup>[1]</sup>, 发病率居癌症第7位, 病死率居第3位<sup>[2]</sup>, 是我国< 60岁男性癌症死亡的首要原因<sup>[3]</sup>。手术和肝移植是治疗肝癌的主要方法, 但仅有少数患者选择且易复发<sup>[4]</sup>, 而索拉非尼等治疗成本较高, 无法广泛推广<sup>[5]</sup>。因此, 探索和发现有效的肝癌治疗药物十分必要。氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)是豆科植物苦参的主要成分之一, 其化学结构见图1。OMT能够抑制肝癌细胞的增殖分化, 诱导细胞凋亡, 多种途径发挥抗肝癌活性<sup>[6-8]</sup>, 安全性好, 不良反应少, 但其作用机制缺乏系统理论, 药物靶点有待进一步研究。HCV NS5A蛋白反式激活基因13(HCV NS5A trans-regulated protein 13, NS5ATP13)是利用抑制性消减杂交技术发现并克隆的新基因, 能够促进肝癌细胞的增殖<sup>[9]</sup>, 是肝癌潜在的治疗新靶点, 推测OMT的抗癌作用与NS5ATP13具有相关性。因此, 本实验旨在探讨OMT与NS5ATP13间的关系及对HepG2细胞增殖凋亡的影响, 为临床用药提供实验依据。

## 1 资料与方法

1.1 实验材料 OMT由江苏正大天晴药业集团股份有限公司提供; 人肝母细胞瘤HepG2细胞系、pNS5ATP13及其阴性对照(NC)由首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所提供; siNS5ATP13及其阴性对照(siNC)由上海吉玛制药技术有限公司合成; lenti-NS5ATP13及其阴性对照(lenti-NC)购自北京靖瑞百康生物技术有限公司。

1.2 实验试剂 DMEM培养基、胎牛血清(Thermo Scientific公司, 美国); CCK-8试剂盒(日本同仁化学公司, 日本); Caspase-Glo<sup>®</sup>3/7检测试剂盒(Promega公司, 美国); Matrigel基质胶(BD公司, 美国); 总RNA提取试剂盒(Thermo Scientific公司, 美国); 逆转录试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司, 中国]; 实时荧光定量PCR试剂盒(ABI公司, 美国); BCA蛋白浓度测定试剂盒(Thermo Scientific

公司, 美国); 抗-NS5ATP13(Santa公司, 美国), Bax、Bcl-2、AKT、p-AKT、GSK3 $\beta$ 、p-GSK3 $\beta$ (Ser9)、mTOR、p-mTOR、N-Cadherin、GAPDH、actin(CST公司, 美国); 引物合成及测序由苏州鸿迅生物科技有限公司完成。

## 1.3 实验方法

1.3.1 细胞活力检测 将HepG2细胞接种在96孔板上, 12 h后加入不同浓度OMT(0 mg/ml、0.5 mg/ml、1 mg/ml、2 mg/ml、4 mg/ml、8 mg/ml)或进行细胞转染。按照完全培养基:CCK-8试剂=10:1的比例配制CCK-8工作液, 充分混匀后, 每孔加入100  $\mu$ l工作液, 37  $^{\circ}$ C孵育1 h, 用酶标仪检测450 nm的吸光度(A)值。细胞活力=( $A_{\text{加药}} - A_{\text{空白}}$ )/( $A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ ) $\times$ 100%; 细胞抑制率=(1 -  $A_{\text{加药}}/A_{\text{对照}}$ ) $\times$ 100%。

1.3.2 细胞划痕实验 将HepG2细胞接种在12孔板上, 12 h后进行加药或转染。待细胞长满后, 用枪头在细胞内做直线划痕, PBS清洗1次, 更换为无血清培养基, 观察并拍照记录细胞愈合情况, 于24 h、48 h和72 h后进行比较。

1.3.3 细胞侵袭实验 取Matrigel基质胶加入Transwell小室中, 放入37  $^{\circ}$ C孵箱, 待其凝固。将细胞制成悬液, 用无血清培养基调整细胞密度为 $1 \times 10^5$ /ml, 上室加入100  $\mu$ l细胞悬液, 下室加入600  $\mu$ l含20%胎牛血清的培养基, 置于37  $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>孵箱中继续培养。24 h后, PBS清洗、甲醇固定、结晶紫染色, 在显微镜下观察穿膜细胞数, 拍照记录。

1.3.4 细胞迁移实验 除未在Transwell小室内加入Matrigel基质胶外, 其余步骤同细胞侵袭实验。

1.3.5 细胞凋亡活性检测 将HepG2细胞接种于96孔板上, 12 h后进行细胞加药或转染。按照Caspase-Glo试剂: PBS=1:1配制Caspase-3/7工作液, 充分混匀后, 每孔加入50  $\mu$ l工作液, 37  $^{\circ}$ C避光孵育30 min。孵育完毕后, 300 r/min室温下避光慢摇1 h, 取上清液30  $\mu$ l, 用微孔板发光检测仪检测样品490/525 nm处的荧光强度。

1.3.6 平板克隆实验 接种适量HepG2细胞于培养皿中, 待细胞完全贴壁后分别感染lenti-NS5ATP13及lenti-NC慢病毒, 孵箱培养72 h并扩增。制备细胞悬液, 取500个细胞接种于培养皿中, 当出现肉眼可见的克隆时, 终止培养。然后PBS清洗、甲醛固定、结晶紫染色, 观察细胞克隆数, 拍照记录。

1.3.7 Real-Time PCR 按照总RNA提取试剂盒说明书操作提取细胞RNA, 按照逆转录试剂盒说明书操作合成cDNA。按照实时荧光定量

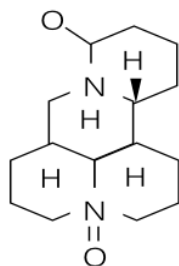


图1 氧化苦参碱的化学结构

PCR试剂盒说明书操作，检测基因NS5ATP13（5'-TCTCTGCTCCTCCCTGTTCC-3'，5'-ATCCGTTTACACCGACCTTC-3'）、 $\beta$ -actin（5'-CATCCGCAAAGACCTGTACGC-3'，5'-AGTACTTGCGCTCAGGAGGAG-3'）。反应结束后，记录Ct值，以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析相对mRNA表达水平。

**1.3.8 Western blot** 以蛋白裂解液裂解细胞，提取上清液即为总蛋白，按照BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白质浓度。99℃，10 min加热变性后，进行10% SDS-PAGE凝胶电泳。然后将蛋白质转移至PVDF膜上，封闭、孵育一抗、二抗，曝光显色并保存图像。

**1.4 统计学处理** 所有数据均采用SPSS 22.0软件进行分析，符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用配对 $t$ 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 OMT对HepG2细胞增殖凋亡的影响** 随OMT浓度的增加，HepG2细胞活性逐渐降低，当OMT  $\geq 1$  mg/ml时，与对照组（OMT 0 mg/ml）相比，差异有统计学意义（ $P$ 均 $< 0.05$ ）（图2）。当OMT  $\leq 4$  mg/ml（15.13 mmol/ml）时， $IC_{50} <$

50%（表1），本实验选用2 mg/ml（7.57 mmol/ml）为后续实验药物浓度。与对照组相比，OMT作用24 h、48 h和72 h时均可显著降低HepG2细胞活力（ $t = 4.097$ ， $P = 0.0064$ ； $t = 42.813$ ， $P < 0.0001$ ； $t = 6.335$ ， $P = 0.0007$ ）（图3），减缓细胞愈合速度（ $t = 3.012$ ， $P = 0.0108$ ； $t = 4.800$ ， $P = 0.0004$ ； $t = 1.517$ ， $P = 0.1552$ ）（图4），抑制细胞的侵袭与迁移能力（图5）。同时，OMT可上调Caspase-3/7和Bax蛋白的表达，下调Bcl-2和N-Cadherin蛋白的表达（图6）。

**2.2 NS5ATP13对HepG2细胞增殖及凋亡的影响** 过表达NS5ATP13后，与对照组相比，48 h和72 h时细胞活力显著增加，差异有统计学意义（ $t = 3.397$ ， $P = 0.0146$ ； $t = 4.107$ ， $P = 0.0063$ ）；24 h、48 h和72 h时愈合速度加快（ $t = 3.717$ ， $P = 0.0099$ ； $t = 3.320$ ， $P = 0.016$ ； $t = 2.963$ ， $P = 0.0252$ ），侵袭与迁移能力增强，沉默后结果与之相反（图7、图8、图9）。过表达NS5ATP13后Caspase-3/7表达显著降低（ $t = 2.912$ ， $P = 0.0269$ ）；沉默NS5ATP13后，Caspase-3/7表达显著升高（ $t = 7.486$ ， $P = 0.0003$ ）（图10）。相关蛋白检测结果显示，过表达NS5ATP13后Bax表达下调、Bcl-2、N-Cadherin表达上调，沉默后结果与之相反（图11）。此外，还构建了

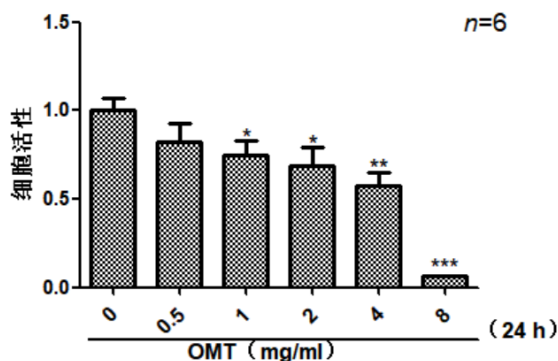


图2 不同浓度OMT作用24 h对细胞活性的影响

注：与对照组（OMT 0 mg/ml）相比，OMT 0.5 mg/ml  $t = 1.398$ ， $P = 0.1923$ ；OMT 1 mg/ml  $t = 2.344$ ， $P = 0.0411$ ；OMT 2 mg/ml  $t = 2.532$ ， $P = 0.0298$ ；OMT 4 mg/ml  $t = 4.255$ ， $P = 0.0017$ ；OMT 8 mg/ml  $t = 13.86$ ， $P < 0.0001$ ；\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$ ，\*\*\* $P < 0.0001$

表1 不同OMT浓度对细胞活性的抑制率

OMT (mg/ml)	复孔1 (A)	复孔2 (A)	复孔3 (A)	复孔4 (A)	平均值 (A)	抑制率 ( $IC_{50}$ , %)
0	0.826	0.999	0.998	0.797	0.905	0
0.5	0.947	0.647	0.612	0.607	0.703	22
1	0.794	0.590	0.522	0.613	0.630	30
2	0.541	0.544	0.562	0.556	0.511	39
4	0.589	0.542	0.478	0.504	0.528	41
8	0.059	0.059	0.063	0.558	0.060	93.37

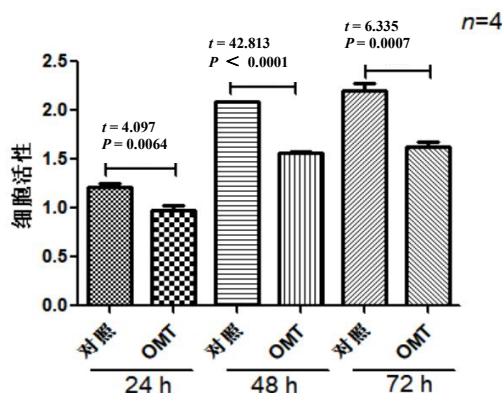


图3 OMT作用不同时间对细胞活性的影响

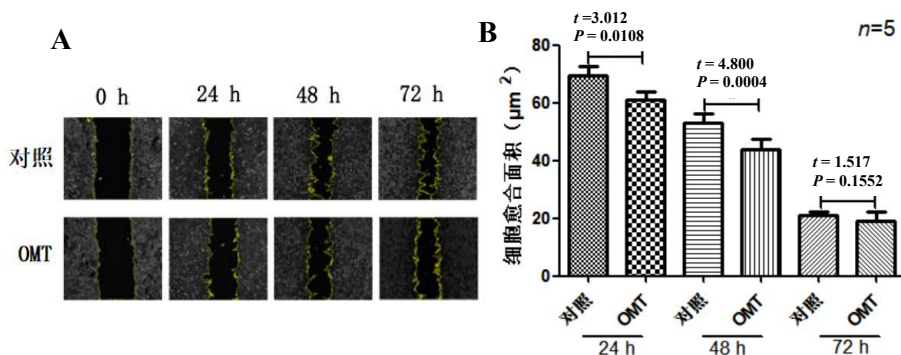


图4 OMT对细胞愈合的影响

注: A 为细胞划痕实验 (200×); B 为 OMT 作用不同时间对细胞愈合面积的影响

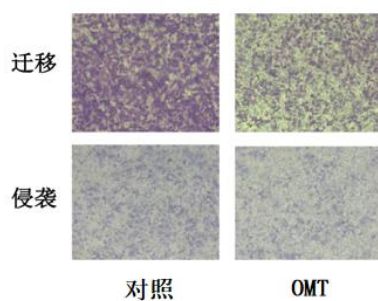


图5 OMT对细胞迁移及侵袭的影响(结晶紫染色, 200×)

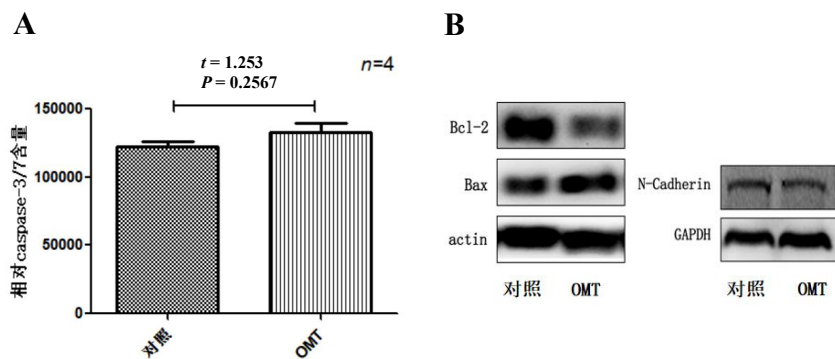


图6 OMT对Caspase-3/7表达量及增殖凋亡相关蛋白的影响

注: A 为 OMT 对 Caspase-3/7 表达量的影响; B 为 OMT 对增殖凋亡相关基因的影响

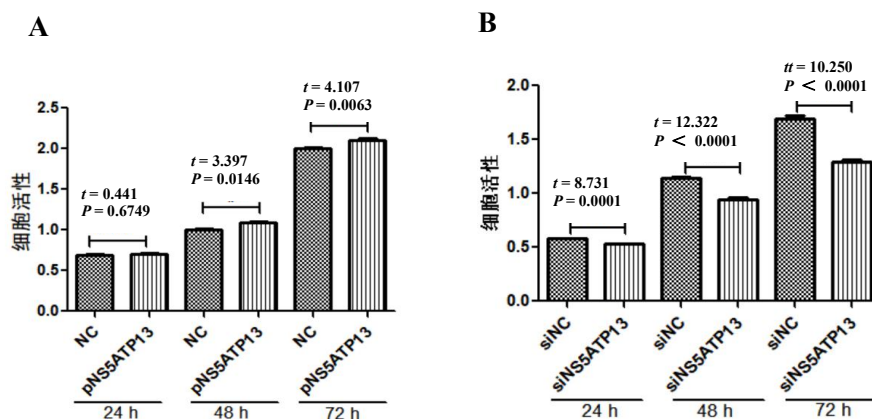


图7 NS5ATP13对细胞活性的影响

注：A. 过表达 NS5ATP13 后不同时间段对细胞活性的影响；B. 干扰 NS5ATP13 后不同时间段对细胞活性的影响

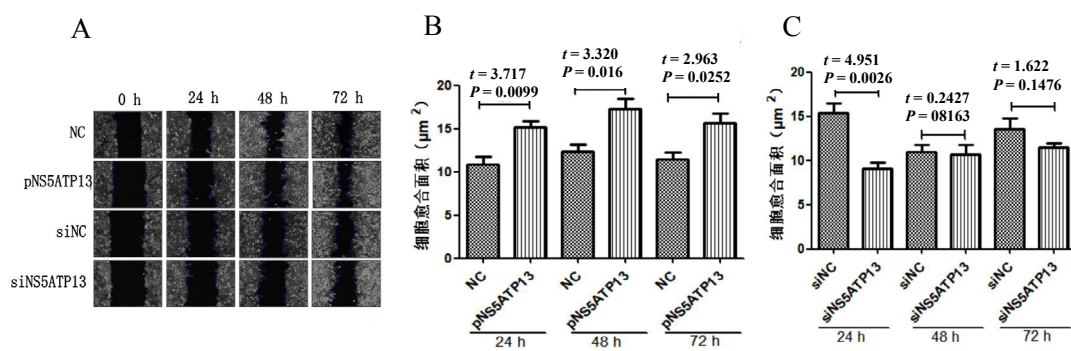


图8 NS5ATP13对细胞愈合的影响

注：A. 显微镜下过表达与干扰 NS5ATP13 后不同时间段细胞愈合情况（200×）；B. 过表达 NS5ATP13 后不同时间段细胞愈合面积量化图；C. 干扰 NS5ATP13 后不同时间段细胞愈合面积量化图

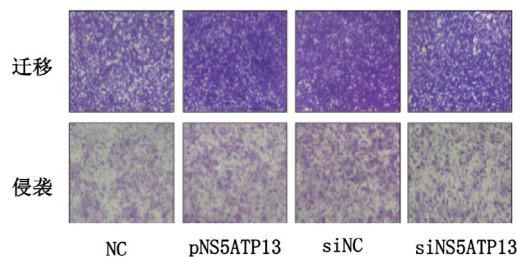


图9 NS5ATP13对细胞迁移和侵袭的影响（结晶紫染色，200×）

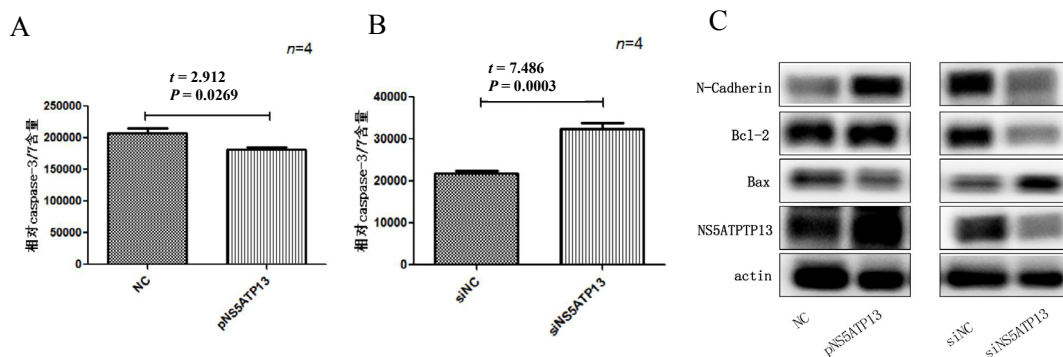


图10 NS5ATP13对Caspase-3/7表达量增殖凋亡相关基因的影响

注：A. 过表达 NS5ATP13 后细胞内 Caspase-3/7 含量；B. 干扰 NS5ATP13 后细胞内 Caspase-3/7 含量；C. 过表达与干扰 NS5ATP13 后细胞内增殖凋亡相关蛋白的变化



NS5ATP13 的稳转细胞系(图 2F), 在平板克隆实验中进一步证实了过表达 NS5ATP13 能够促进细胞增殖(图 2G)。

**2.3 OMT 与 NS5ATP13 的关系** OMT 能显著抑制 NS5ATP13 mRNA ( $t = 3.646$ ,  $P = 0.0218$ ) 与蛋白的表达(图 12A、图 12B), 且在沉默 NS5ATP13 后加入 OMT 可显著降低 HepG2 细胞活性(图 12C)、抑制细胞迁移和侵袭能力(图 13)、延缓细胞愈合速度(图 14), 但随着时间推移, 细胞愈合速度的组间差异减小, 考虑与细胞密度及状态有关(图

14)。同时, 沉默 NS5ATP13 后加入 OMT 可显著抑制 Bcl-2、N-Cadherin 蛋白的表达(图 15)。

**2.4 OMT、NS5ATP13 与 AKT/GSK/mTOR 信号转导通路的关系** OMT 可显著降低 p-AKT、p-GSK3 $\beta$  (Ser9) 及 p-mTOR 蛋白的表达(图 16); 过表达 NS5ATP13 可增加 p-AKT、p-GSK3 $\beta$  (Ser9) 和 p-mTOR 蛋白的表达, 沉默后结果与之相反(图 17)。沉默 NS5ATP13 后再加入 OMT, p-AKT、p-GSK3 $\beta$  (Ser9) 和 p-mTOR 蛋白表达水平显著低于对照组(图 18)。

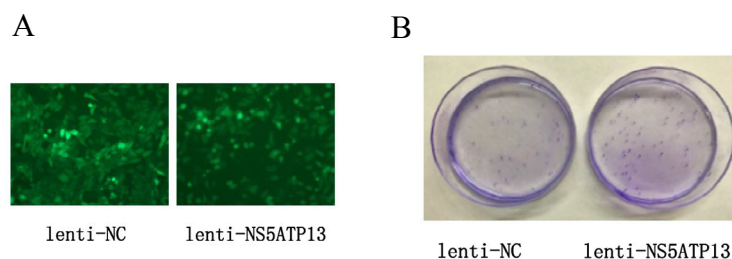


图 11 NS5ATP13 慢病毒载体的构建及克隆增殖能力的检测

注: A. 荧光显微镜下细胞内慢病毒载体图(200 $\times$ ); B. NS5ATP13 及对照单克隆结晶紫染色

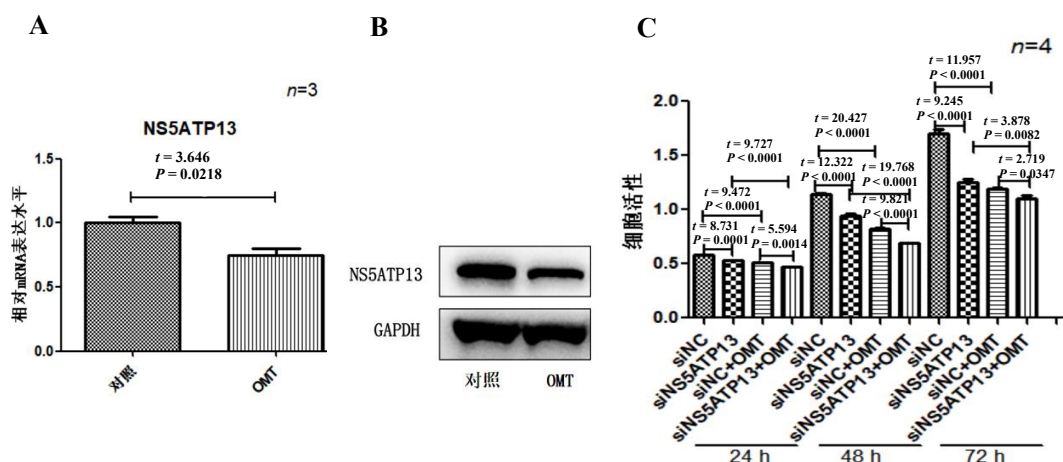


图 12 沉默 NS5ATP13 后加用 OMT 对抑制 NS5ATP13 mRNA 与蛋白的表达

注: A. 加入 OMT 后细胞内 NS5ATP13 在 mRNA 水平的变化; B. 加入 OMT 后细胞内 NS5ATP13 在蛋白水平的变化; C. 沉默 NS5ATP13 后加入 OMT 对细胞活性的影响

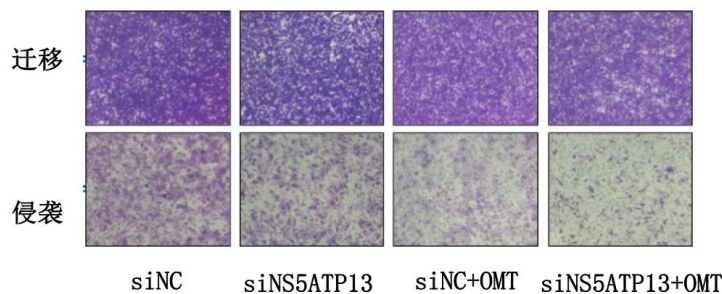


图 13 沉默 NS5ATP13 后加用 OMT 对细胞侵袭和迁移的影响(结晶紫染色, 200 $\times$ )

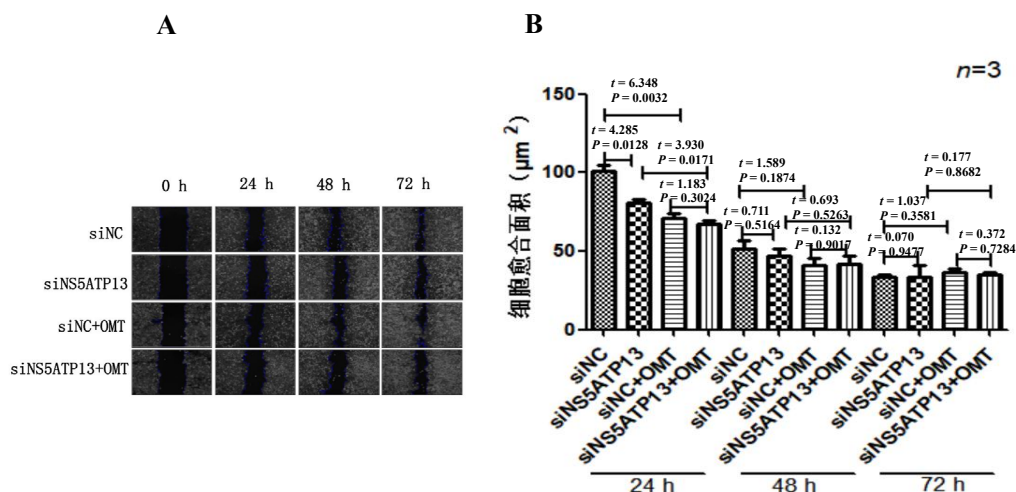


图 14 沉默 NS5ATP13 后加用 OMT 对细胞愈合的影响

注：A. 显微镜下沉默 NS5ATP13 后加用 OMT 后细胞愈合情况的变化（200×）；B. 沉默 NS5ATP13 后加用 OMT 后细胞愈合情况的量化图

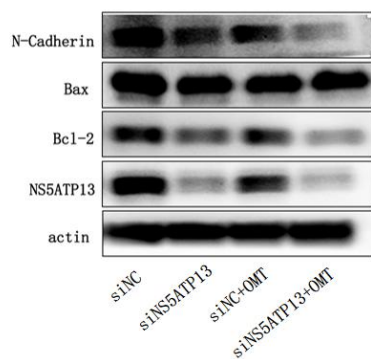


图 15 沉默 NS5ATP13 后加用 OMT 对增殖凋亡相关蛋白的影响

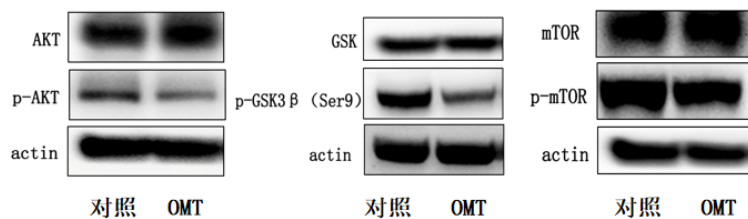


图 16 OMT 对 AKT/GSK/mTOR 信号转导通路的影响

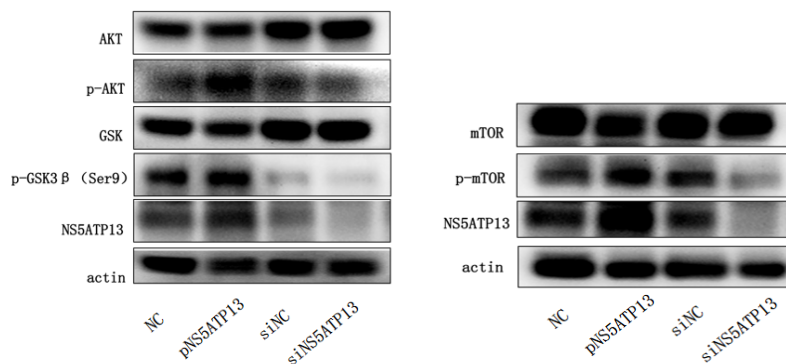


图 17 NS5ATP13 对 AKT/GSK/mTOR 信号转导通路的影响

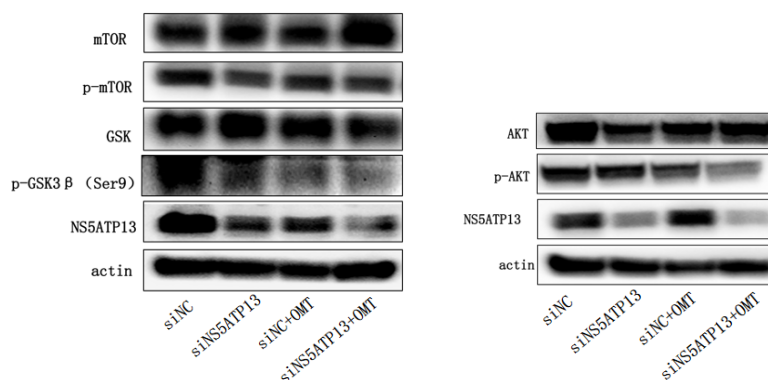


图 18 沉默 NS5ATP13 后加用 OMT 对 AKT/GSK/mTOR 信号转导通路的影响

### 3 讨论

OMT是临床中广泛应用的抗肿瘤药物,可调控肿瘤相关基因、抑制肿瘤浸润转移及肿瘤新生血管生成等,从而诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[10]</sup>。本研究表明,OMT能够诱导HepG2细胞凋亡,作用机制与Bax、Bcl-2、Caspase-3/7及N-Cadherin有关。Bax和Bcl-2是线粒体凋亡途径的主要调控因子,二者可结合形成异二聚体复合物,影响线粒体膜的通透性和膜电位,并在胱冬肽酶家族的参与下调控细胞存亡<sup>[11,12]</sup>。N-Cadherin可调节上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),介导细胞间的黏附和迁移,在肿瘤的侵袭和进展中具有重要作用<sup>[13,14]</sup>。OMT能够抑制Bax、N-Cadherin,上调Bcl-2、Caspase-3/7,提示OMT诱导HepG2细胞凋亡与激活线粒体凋亡途径、抑制EMT活化有关。

NS5ATP13,又称核螺旋体磷酸化蛋白1(nucleolar and coiled-body phosphoprotein 1, NOLC1)或核仁磷酸化蛋白140(nucleolar phosphoprotein 140, Nopp140),最早作为一种核定位信号(nuclear localization signal, NLS)结合蛋白,具有在细胞核与细胞质中穿梭的功能,可影响细胞的增殖、分化和生物体的生长、发育<sup>[15]</sup>,与多种恶性疾病相关<sup>[16-20]</sup>。研究表明,NS5ATP13可提高HepG2的细胞活力,调节Bcl-2、Bax、Caspase-3/7及N-Cadherin,提示NS5ATP13可能通过抑制线粒体凋亡途径、促进EMT活化,从而促进HepG2细胞增殖。本研究表明OMT可下调NS5ATP13,且在NS5ATP13沉默后加入OMT,细胞活力、迁移和侵袭能力均显著低于对照组,Bax显著上调,Bcl-2、N-Cadherin显著下调,表明OMT可能通过抑制NS5ATP13调控线粒体凋亡途径和EMT活化进而诱导HepG2细胞凋亡。

PI3K/AKT通路是肝癌发生和进展的关键信号转导通路,在肿瘤细胞的生长、增殖和凋亡中具

有重要作用<sup>[21,22]</sup>。AKT在PI3K信号转导的枢纽,磷酸化的AKT可使Bax的Ser184残基磷酸化而失活,并抑制Bcl-2家族促凋亡蛋白Bad的活性,解聚Bad/Bcl-2复合体,游离的Bcl-2增多,从而抑制细胞凋亡<sup>[23]</sup>;同时,磷酸化的AKT能够磷酸化GSK3β的Ser9位点而使其活性受抑制,进而减少GSK对细胞骨架蛋白的降解及对细胞黏附的抑制,从而抑制细胞凋亡<sup>[24,25]</sup>。mTOR是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,受多种细胞信号调节,AKT是mTOR信号转导通路的重要上游信号分子,活化的AKT可直接活化mTOR,提高mRNA的翻译效率,增加细胞生长和分化相关蛋白的表达,加速肿瘤进展<sup>[26]</sup>。本研究结果提示,OMT与NS5ATP13及AKT/GSK/mTOR信号转导通路相关,且在沉默基因后加入OMT,AKT/GSK/mTOR信号转导通路显著受抑制,提示OMT可能通过抑制NS5ATP13来抑制AKT/GSK/mTOR信号转导通路的活化,进而抑制HepG2细胞的增殖并诱导细胞凋亡,发挥抗癌作用。至于OMT如何调控NS5ATP13,可能与NS5ATP13本质上是一种无序的蛋白质,主要通过与其他蛋白质的相互作用起作用有关<sup>[27]</sup>。OMT中可能含有某种蛋白,能与NS5ATP13竞争性结合,这有待于进一步研究。

综上,本研究提出了抑癌作用的新靶点,对OMT抑制肝癌的分子机制提出了新见解。但本实验尚缺乏动物体内实验验证,对OMT如何调控NS5ATP13及与AKT/GSK/mTOR信号转导通路的关系需进一步研究。另有文献报道,CK2可使NS5ATP13发生广泛磷酸化<sup>[29]</sup>,这为后期研究提供了思路。

### 参考文献

- [1] Ma X, Tan YT, Yang Y, et al. Pre-diagnostic urinary 15-F<sub>2</sub>-isoprostane level and liver cancer risk: results from the Shanghai Women's and Men's Health Studies[J]. Int J Cancer, 2018, 143(8): 1896-1903.



- [2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, 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.
- [3] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- [4] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017年版)[J]. *传染病信息*, 2017, 16(7):705-720.
- [5] Hu Y, Wang S, Wu X, et al. Chinese herbal medicine-derived compounds for cancer therapy: a focus on hepatocellular carcinoma[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 149(3):601-612.
- [6] 杨静波, 李宏杰. 苦参碱和氧化苦参碱对肝癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(9):1067-1069.
- [7] 邓通元, 黄桂柳, 黄赞松, 等. 苦参素对肝癌细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响[J]. *山东医药*, 2018, 58(10):5-8.
- [8] 王淑静, 刘欢, 赵健凯, 等. 氧化苦参碱对人肝癌HepG2细胞增殖及能量代谢的影响[J]. *中成药*, 2017, 39(9):1932-1935.
- [9] 袁菊, 成军, 洪源, 等. HCV NS5A反式激活基因NS5ATP13对肝癌细胞生长的影响[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2011, 3(1):1-7.
- [10] 熊旋, 李磊, 王庆才. 氧化苦参碱对肿瘤抑制作用的研究进展[J]. *海南医学*, 2017, 29(8):1135-1138.
- [11] Bao T, Ke Y, Wang Y, et al. Taraxasterol suppresses the growth of human liver cancer by upregulating Hint1 expression[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2018, 96(7):661-672.
- [12] Zhang G, Zeng X, Zhang R, et al. Dioscin suppresses hepatocellular carcinoma tumor growth by inducing apoptosis and regulation of TP53, BAX, BCL2 and cleaved CASP3[J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(12):1329-1336.
- [13] 姜爽, 任艳平, 魏琳, 等. 人参皂苷CK对MCF-7细胞增殖、凋亡、上皮间质转化、PI3K/Akt信号通路的影响[J]. *中成药*, 2018, 40(9):1925-1929.
- [14] Liu D, Sun L, Qin X, et al. HSF1 promotes the inhibition of EMT-associated migration by low glucose via directly regulating Snail1 expression in HCC cells[J]. *Discov Med*, 2016, 22(120):87-96.
- [15] 高学松, 成军. HCV NS5A反式调节蛋白13研究进展[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2011, 3(3):43-51.
- [16] Hwang YC, Lu TY, Huang DY, et al. NOLC1, an enhancer of nasopharyngeal carcinoma progression, is essential for TP53 to regulate MDM2 expression[J]. *Am J Pathol*, 2009, 175(1):342-354.
- [17] Lin CI, Yeh NH. Treacle recruits RNA polymerase I complex to the nucleolus that is independent of UBF[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 386(2):396-401.
- [18] Yuan F, Zhang Y, Ma L, et al. Enhanced NOLC1 promotes cell senescence and represses hepatocellular carcinoma cell proliferation by disturbing the organization of nucleolus[J]. *Aging Cell*, 2017, 16(4):726-737.
- [19] Huang H, Li T, Chen M, et al. Identification and validation of NOLC1 as a potential target for enhancing sensitivity in multidrug resistant non-small cell lung cancer cells[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2018, 23:54.
- [20] Cito L, Indovina P, Forte IM, et al. pRb2/p130 localizes to the cytoplasm in diffuse gastric cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(4):802-805.
- [21] 钱宏梁, 潘志强, 王晓敏, 等. 真武汤通过PI3K-AKT-mTOR信号通路抑制H22肝癌小鼠肿瘤增长的研究[J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(9):2060-2065.
- [22] 顾清, 张莉, 张新星, 等. 抑制ERBB2基因对肝癌HepG2细胞生长及PI3K/AKT信号通路的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2019, 54(1):19-23.
- [23] Henshall DC, Araki T, Schindler CK, et al. Activation of Bcl-2-associated death protein and counter-response of Akt within cell populations during seizure-induced neuronal death[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(19):8458-8465.
- [24] 赵培, 叶杰, 闫晓凤, 王晓玲. 麦角甾苷通过PI3K/Akt/GSK3 $\beta$ 通路抑制H2O2诱导的小鼠胚胎肝细胞凋亡[J]. *中国细胞生物学学报*, 2017, 39(1):13-20.
- [25] Zhang Z, Xu J, Liu B, et al. Ponicidin inhibits pro-inflammatory cytokine TNF- $\alpha$ -induced epithelial-mesenchymal transition and metastasis of colorectal cancer cells via suppressing the AKT/GSK-3 $\beta$ /Snail pathway[J]. *Inflammopharmacology*, 2018, doi: 10.1007/s10787-018-0534-5. [Epub ahead of print].
- [26] 姜凤丽, 王晓滨, 宗婧, 等. PI3K-Akt/mTOR信号通路对卵巢早衰相关性研究进展[J]. *黑龙江科学*, 2019, 10(2):50-51.
- [27] Na JH, Lee WK, Kim Y, et al. Biophysical characterization of the structural change of Nopp140, an intrinsically disordered protein, in the interaction with CK2 $\alpha$ [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 477(2):181-187.
- [28] Na JH, Lee WK, Yu YG. How do we study the dynamic structure of unstructured proteins: a case study on Nopp140 as an example of a large, intrinsically disordered protein[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2):381-392.
- [29] 王珂琪, 许维恒, 丁力, 等. 蛋白激酶CK2 $\alpha$ 在大鼠肝纤维化病理过程中的表达变化[J]. *药实践杂志*, 2015, 33(6):518-521, 575.

收稿日期: 2019-02-20

尹玥, 韩铭, 朱晓宁, 等. 氧化苦参碱调节NS5ATP13对人肝母细胞瘤HepG2细胞系增殖及凋亡的作用机制[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2019, 11(2):1-9.