

• 药理与临床 •

蜈蚣提取物对人肝癌 HepG2 细胞 STAT3 信号通路的影响

廖 柳¹, 刘晓斌^{1#}, 周 青², 王志琪³, 田 莎⁴, 陈 园¹, 田雪飞^{4*}

1. 湖南中医药大学研究生学院, 湖南 长沙 410208

2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007

3. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

4. 湖南中医药大学中西医结合学院, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 观察蜈蚣提取物作用于肝癌 HepG2 细胞后对信号传导与转录激活因子 3 (STAT3) 信号通路及磷酸化相关蛋白的表达以及细胞转移侵袭能力的影响, 探讨蜈蚣提取物介导 STAT3 信号通路抗肝癌侵袭转移的调控作用机制。方法 梯度质量浓度 (300、600、1 200、2 400 $\mu\text{g/mL}$) 的蜈蚣提取物处理人肝癌 HepG2 细胞, 采用 CCK8 法检测细胞增殖抑制率, 计算半数抑制浓度 (IC_{50})。将人肝癌细胞分为对照组, 蜈蚣提取物 250、500 $\mu\text{g/mL}$ 组, 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 对照组, 蜈蚣提取物处理人肝癌细胞 48 h 时, Transwell 细胞侵袭实验检测 HepG2 细胞的侵袭能力变化, Western blotting 方法检测 STAT3、p-STAT3、血管内皮生长因子 (VEGF)、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 蛋白的表达情况。结果 CCK8 方法检测显示, 蜈蚣提取物对人肝癌 HepG2 细胞增殖有明显抑制作用 ($P < 0.05$), 呈剂量依赖性, IC_{50} (48 h) 值为 508.3 $\mu\text{g/mL}$; Transwell 细胞侵袭实验结果显示, 蜈蚣提取物处理 48 h 时, 人肝癌 HepG2 细胞的侵袭能力明显降低, 蜈蚣提取物 250、500 $\mu\text{g/mL}$ 组和 5-FU 组透膜细胞数显著少于对照组 ($P < 0.05$); 与 250 $\mu\text{g/mL}$ 蜈蚣提取物组比较, 500 $\mu\text{g/mL}$ 蜈蚣提取物组、5-FU 组透膜细胞数更少 ($P < 0.05$)。Western blotting 实验结果显示, 蜈蚣提取物处理 48 h 时, STAT3 通路主要以 p-STAT3 表达下调为主, 250、500 $\mu\text{g/mL}$ 蜈蚣提取物组 p-STAT3 均较对照组下调 ($P < 0.05$ 、 0.01); 500 $\mu\text{g/mL}$ 蜈蚣提取物组处理后的 MMP-2、VEGF 蛋白表达下调, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$), 与 250 $\mu\text{g/mL}$ 蜈蚣提取物组比较, MMP-2 表达下调更显著 ($P < 0.05$)。结论 蜈蚣提取物主要通过降低 STAT3 磷酸化调控 STAT3 相关信号通路的过度活化, 从而降低下游靶蛋白 MMP-2、VEGF 的表达, 抑制人肝癌细胞的增殖及转移侵袭能力。

关键词: 蜈蚣; 肝癌; 信号传导与转录激活因子 3 信号通路 (STAT3); HepG2; 血管内皮生长因子; 基质金属蛋白酶-2

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)05-0930-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.05.015

Effect of *Scolopendra subspinipes* extracts on STAT3 signaling pathway of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells

LIAO Liu¹, LIU Xiao-bin¹, ZHOU Qing², WANG Zhi-qi³, TIAN Sha⁴, CHEN Yuan¹, TIAN Xue-fei⁴

1. Post-Graduate School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. The First Affiliate Hospital, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

3. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

4. College of Integrated Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective To observe the effect of *Scolopendra subspinipes* extracts (SSE) on signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway and phosphorylation of its protein expression as well as the regulation mechanisms of HepG2 cells proliferation, invasion, and metastasis after SSE exposure. **Methods** HepG2 cells were processed with SSE of gradient concentration (300, 600, 1 200, and 2 400 $\mu\text{g/mL}$). The inhibitory effect of SSE on HepG2 cell proliferation was evaluated by CCK8 method. Subsequent experimental concentration was set from IC_{50} result of CCK8 methods. HepG2 cells were divided into control, SSE (250 and 500 $\mu\text{g/mL}$), and 5-FU groups.

收稿日期: 2016-09-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473617); 湖南省高层次卫生人才“225 工程”项目资助 (湘卫人发 2013-13 号)

作者简介: 廖 柳 (1992—), 女, 在读硕士, 研究方向为中西医结合防治肿瘤研究。Tel: 18674824340 E-mail: 1550675570@qq.com

*通信作者 田雪飞, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为抗肿瘤中药有效成分研究。Tel: 13787150655 E-mail: windsame@163.com

#并列第一作者 刘晓斌 (1991—), 女, 在读硕士。Tel: 15580877726 E-mail: 704118485@qq.com

After HepG2 cells were treated with SSE for 48 h, Transwell Chambers detected the invasion of HepG2 cells and Western blotting demonstrated expression and activation of STAT3, p-STAT3 and VEGF, MMP-2 protein. **Results** CCK8 method showed that SSE had obvious inhibition effect on human HepG2 cells proliferation with dose dependent effect ($P < 0.05$). The IC_{50} of SSE was 508.3 $\mu\text{g/mL}$ at 48 h. Transwell result showed invasive ability of human HepG2 cells was significantly reduced compared with control group after SSE worked to cells for 48 h ($P < 0.05$). Compared with 250 $\mu\text{g/mL}$ SSE group, the number of membrane cells in 500 $\mu\text{g/mL}$ SSE and 5-FU groups were less ($P < 0.05$). Western blotting analysis showed that STAT3 signaling pathway was mainly down regulated by p-STAT3 expression after SSE worked to cells for 48 h. Compared with control group, the p-STAT3 expression of SSE was down-regulated ($P < 0.05$). The MMP-2 and VEGF protein expression of 500 $\mu\text{g/mL}$ SSE decreased compared with control group ($P < 0.05$). The MMP-2 protein expression of 500 $\mu\text{g/mL}$ SSE group had obvious difference compared with the 250 $\mu\text{g/mL}$ SSE group ($P < 0.05$). **Conclusion** SSE regulate the activation of human HepG2 cells STAT3 signaling pathway by STAT3 phosphorylation down-regulation and reduce the expression of MMP-2 and VEGF downstream target protein, thus inhibited HepG2 cells proliferation, invasion, and metastasis ability *in vitro*.

Key words: *Scolopendra subspinipes mutilans* L. Koch; hepatocellular carcinoma; signal transducer and activator of transcription 3; HepG2; VEGF; MMP-2

肝癌的中医基本病机标实为“血瘀、毒结”，据此在临床可采用攻补兼施，攻以峻猛攻毒散结的方法。虫类中药的抗肿瘤作用一直颇受关注^[1]，其中蜈蚣作为一种重要的虫类药物，其攻毒散结的功效益可应用于临床治疗肝癌的中药复方配伍中^[2-4]。前期实验研究中也发现，蜈蚣提取物具有良好的体内外抗肿瘤活性^[5]。肝癌的转移复发是导致临床低生存率的重要原因，近年来发现信号传导与转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 通路在细胞的肿瘤侵袭转移过程中具有重要的意义，已证实肝癌的成瘤前和新生瘤的增殖过程中 STAT3 通路起着决定性作用^[6-7]。为了进一步深入研究蜈蚣提取物的抗肝癌机制，本实验观察蜈蚣提取物作用于肝癌 HepG2 细胞后对 STAT3 信号通路与磷酸化相关蛋白表达以及细胞转移侵袭能力的影响，探讨蜈蚣提取物介导 STAT3 信号通路抗肝癌侵袭转移的调控作用机制。

1 材料

1.1 细胞株

采用人肝癌 HepG2 细胞株，购自湘雅医学院细胞中心。用含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 完全培养基，置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 饱和湿度的恒温孵育箱中培养。

1.2 主要试剂及仪器

高糖 DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司); 胎牛血清、胰蛋白酶 (美国 Invitrogen 公司); 二甲基亚砜 (美国 Amresco 公司); CCK8 试剂盒 (中国上海七海复泰生物科技有限公司); STAT3 小鼠抗人单克隆抗体、p-STAT3 小鼠抗人单克隆抗体、金属基质蛋白酶-2 (MMP-2) 小鼠抗人单克隆抗体、血管内皮生长因子 (VEGF) 小鼠抗人单克隆抗体、HRP 标记山羊抗小鼠 IgG 抗体 (美国 Santa Cruz 公司产

品); ECL 增强发光试剂盒 (美国 Amersham 公司); 细胞总蛋白抽提试剂盒 (中国碧云天生物公司)。 CO_2 培养箱 (美国 Thermo 公司); DU640 核酸及蛋白分析仪、高速低温离心机 (美国 Beckman 公司); 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); Elx808 型酶标仪、蛋白电泳仪与转移仪 (美国 Bio-rad 公司)。

1.3 药材与药品

蜈蚣为蜈蚣科动物少棘巨蜈蚣 *Scolopendra subspinipes mutilans* L. Koch 的干燥体，本实验所用蜈蚣超微粉末一次性购于湖南中医药大学第一附属医院药剂科，并经湖南中医药研究院中药研究所彭艳梅研究员鉴定。5-FU，上海源叶生物科技有限公司，批号 S17073。

2 方法

2.1 蜈蚣提取物的制备及分离纯化

按照前期建立的方法^[5]进行提取分离。具体方法：蜈蚣超微粉末 2 g，55 $^{\circ}\text{C}$ 蛋白酶酶解后，99 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中灭活 10 min，4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 离心 10 min，取上清液，2 倍体积预冷丙酮沉淀，4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 离心 10 min，取沉淀，超纯水充分溶解沉淀，重复 2 次。收集最后沉淀，超纯水溶解，加入 2 倍体积预冷丙酮，取沉淀，30 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥成粉末 99.6 mg，提取率是 4.89%，-20 $^{\circ}\text{C}$ 冻存备用。蜈蚣提取物中主要成分为蛋白，质量分数为 80.1%。

2.2 细胞增殖检测

CCK8 法检测蜈蚣提取物对 HepG2 细胞的增殖抑制作用。选取对数生长期 HepG2 细胞制成单细胞悬液，调整浓度为 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔培养板，每孔 100 μL 细胞悬液，待细胞贴壁后分别加入不同质量浓度 (300、600、1 200、2 400 $\mu\text{g/mL}$) 的蜈蚣提取物，每孔 100 μL ，同时设对照组和空白组 (调零

孔), 均设 5 个复孔。其中对照组接种细胞加入完全培养基, 空白组只加入完全培养基。分别于培养 24、48、72 h 时加入 CCK8 20 μL , 孵育 30 min 后, 酶标仪 450 nm 测定吸光度 (A) 值。计算细胞增殖抑制率, 采用直线回归方程计算半数抑制浓度 (IC_{50})。

$$\text{增殖抑制率} = 1 - A_{\text{药物组}} / A_{\text{对照组}}$$

2.3 细胞侵袭能力检测

采用 Transwell 小室检测蜈蚣提取物对 HepG2 细胞的侵袭能力的抑制作用, 根据细胞侵袭测定试剂盒操作说明进行。将基质胶按照 40 μL /孔均匀铺在 8 μm 孔径 Transwell 小室滤膜上, 置小室于 24 孔板内。选取对数生长期 HepG2 细胞制成单细胞悬液, 调整浓度为 2.5×10^5 个/mL, 取 0.2 mL 接种于成胶的 Transwell 小室上室, 同时下室加 0.5 mL 完全培养基。蜈蚣提取物设置 2 组, 处理质量浓度分别为 250、500 $\mu\text{g/mL}$, 同时设置对照组与阳性对照组 (5-FU 组, 质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$)。培养 48 h 时取出 Transwell 小室, 用棉签擦去滤膜上面未穿膜细胞, 滤膜下室面细胞用甲醇固定, 常规 HE 染色。200 \times 高倍镜下任取 4 个不重叠视野观察计算穿膜细胞数目。

2.4 细胞蛋白表达检测

采用 Western blotting 方法检测蜈蚣提取物处理后 HepG2 细胞 STAT3 信号通路相关蛋白表达变化。选取对数生长期 HepG2 细胞制成单细胞悬液, 调整浓度为 2×10^6 个/mL, 接种于 6 孔培养板, 每孔 500 μL 细胞悬液, 待细胞贴壁后分别加入 250、500 $\mu\text{g/mL}$ 的蜈蚣提取物, 每孔 500 μL , 同时设置对照组与 5-FU 组 (10 $\mu\text{g/mL}$)。处理 48 h 时收集细胞, 以冰冷的 PBS 缓冲液洗涤细胞, 加入细胞裂解液 lysis buffer (含 2.5% 磷酸酶抑制剂混合物, 1% NP-40) 后刮取细胞, 置冰上 30 min 完全裂解, 以 500 W 功率超声处理后, 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 14 000 r/min 离心 5 min, 取上清即为样品总蛋白。样品总蛋白质量浓度采用 BCA 法检测。Western blotting 法检测 STAT3、p-STAT3、MMP-2、VEGF 的蛋白表达水平, 一抗稀释浓度为 1:500, 二抗稀释浓度为 1:1 000。洗膜后用 ECL 发光试剂盒检测杂交信号, Bio-Rad 凝胶成像系统采集图片, 结果采用 Quantity One 软件进行灰度值分析, 实验重复 3 次。

2.5 统计学方法

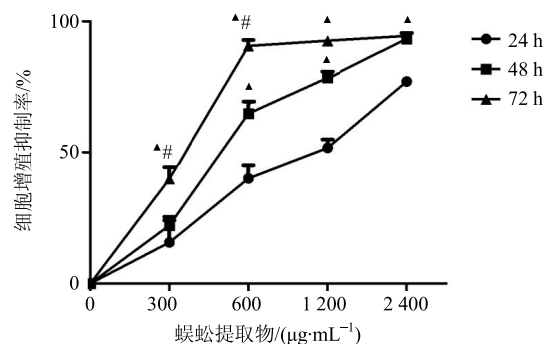
数据使用 SPSS 19.0 统计软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 经方差齐性检验后, 采用单因素方差

分析, 组间比较采用 SNK 法。

3 结果

3.1 对 HepG2 细胞增殖的抑制作用

CCK8 法检测结果显示, 蜈蚣提取物对 HepG2 细胞增殖有明显抑制作用 ($P < 0.05$), 呈剂量依赖性, 见图 1。与 24、72 h 比较, 处理 48 h 时蜈蚣提取物的增殖抑制作用随质量浓度增加快速增强, 并且不出现平台期。因此选择 48 h 作为后续实验的处理时间。经计算 IC_{50} (48 h) 值为 508.3 $\mu\text{g/mL}$, 在后续实验中, 确定蜈蚣提取物处理 HepG2 细胞的质量浓度分别为 250 $\mu\text{g/mL}$ (相当于作用 48 h 的 1/2 IC_{50} 值) 和 500 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} (相当于作用 48 h 的 IC_{50} 值), 检测对细胞侵袭能力及蛋白表达的影响。



与 24 h 比较: $\Delta P < 0.05$; 与 48 h 比较: $\# P < 0.05$

$\Delta P < 0.05$ vs 24 h; $\# P < 0.05$ vs 48 h

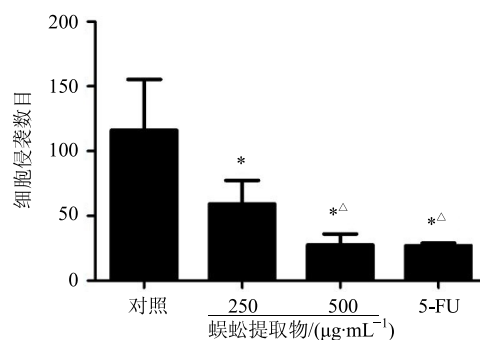
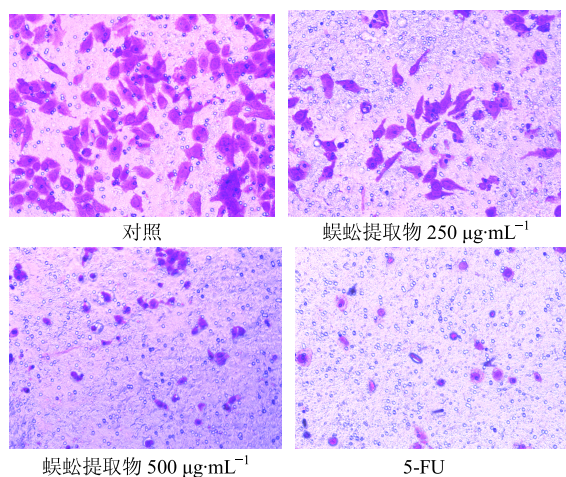
图 1 蜈蚣提取物对 HepG2 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)
Fig. 1 Inhibition of SSE on proliferation of HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

3.2 对 HepG2 细胞侵袭能力的影响

Transwell 细胞侵袭实验结果显示, 对照组透膜细胞数为 (116.0 ± 39.3) 个/视野。经蜈蚣提取物处理 48 h 时, 人肝癌 HepG2 细胞的侵袭能力明显降低, 250、500 $\mu\text{g/mL}$ 蜈蚣提取物组的透膜细胞数分别为 (59.25 ± 18.2)、(27.5 ± 8.6) 个/视野。5-FU 组 (10 $\mu\text{g/mL}$) 透膜细胞数为 (28.7 ± 2.5) 个/视野。与对照组比较, 蜈蚣提取物及 5-FU 组均能使细胞穿过 Matrigel 基质胶的数目减少, 侵袭能力明显降低 ($P < 0.05$)。与蜈蚣提取物 250 $\mu\text{g/mL}$ 组比较, 蜈蚣提取物 500 $\mu\text{g/mL}$ 组、5-FU 组透膜细胞数更少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2。

3.3 对 HepG2 细胞 STAT3、p-STAT3、MMP-2、VEGF 蛋白表达的影响

Western blotting 方法检测 STAT3 信号通路相关蛋白的表达结果显示, 经蜈蚣提取物处理 HepG2 细



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 蜈蚣提取物组比较: $\Delta P < 0.05$
* $P < 0.05$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs 250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ SSE group

图 2 蜈蚣提取物对 HepG2 细胞侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Effect of SSE on invasion ability of HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

胞 48 h 时, STAT3 蛋白表达虽然呈下降趋势, 但与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与对照组比较, 250、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 蜈蚣提取物与 5-FU 组的 p-STAT3 表达均降低, 差异显著 ($P < 0.05$ 、0.01), 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 蜈蚣提取物组降低作用要优于 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 蜈蚣提取物组, 两组间比较差异显著 ($P < 0.05$); 与对照组比较, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 蜈蚣提取物组、5-FU 组的 MMP-2、VEGF 蛋白的表达显著降低 ($P < 0.05$), 且降低 MMP-2 的作用优于 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 蜈蚣提取物组 ($P < 0.05$)。见图 3 和表 1。

4 讨论

肝癌的发生、发展是一个多基因、多步骤的复杂过程, STAT3 的信号转导通路在肝癌发生、发展

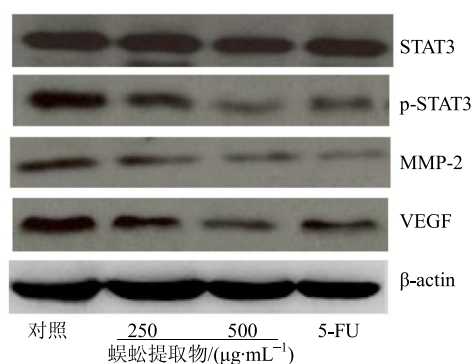


图 3 各组 HepG2 细胞 STAT3、p-STAT3、MMP-2、VEGF 蛋白表达

Fig. 3 Protein expression of STAT3, p-STAT3, MMP-2, and VEGF in HepG2 cells

表 1 蜈蚣提取物对 HepG2 细胞 STAT3、p-STAT3、MMP-2、VEGF 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Effect of SSE on STAT3, p-STAT3, MMP-2, and VEGF protein expression in HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	STAT3	p-STAT3	MMP-2	VEGF
对照	—	0.97 ± 0.42	1.23 ± 0.69	0.88 ± 0.20	1.18 ± 0.74
蜈蚣提取物	250	0.76 ± 0.37	$0.86 \pm 0.41^*$	0.62 ± 0.11	0.98 ± 0.42
	500	0.68 ± 0.43	$0.54 \pm 0.33^{**\Delta}$	$0.33 \pm 0.22^{*\Delta}$	$0.75 \pm 0.38^*$
5-FU	10	0.72 ± 0.36	$0.61 \pm 0.28^{**}$	$0.36 \pm 0.13^{*\Delta}$	$0.65 \pm 0.43^*$

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 蜈蚣提取物组比较: $\Delta P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs 250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ SSE group

的分子生物学基础上起着重要作用。STAT3 的信号转导通路与肿瘤细胞的增殖、凋亡、免疫抑制、转移以及肿瘤血管生成等过程密切相关^[8-9]。通过使用 Janus 激酶抑制剂 AG490 可阻断人肝癌 SMMC-7721 细胞 JAK2/STAT3 信号通路, 从而抑

制肝癌细胞的生长和侵袭^[10]。近年来的众多研究发现, 中药单体成分、提取物或中药复方可通过干预 STAT3 信号通路发挥抗肿瘤作用^[11-13]。

STAT3 的过度活化与多种恶性肿瘤的血管生成、侵袭、转移等密切相关, 在发病分子机制中处于核心

位置^[14-17]。在侵袭转移过程中,常常伴随具有屏障作用的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)异常降解^[18]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)在 ECM 的重塑和降解中扮演着重要角色,研究表明肝癌存在高表达的 MMP-2^[10]。VEGF 作为最重要的促血管生成因子能够刺激血管内皮细胞的增殖促进血管通透性,对血管生成在肿瘤的生长、转移和浸润中发挥重要的作用。由于 VEGF、MMP-2 启动子区都存在活化的 STAT3 高亲和结合位点,因此转录表达可作为靶基因直接受到 STAT3 调控^[19-20]。本研究结果显示,肝癌细胞存在 STAT3 的过度活化,出现 p-STAT3 的高表达,从而调控 MMP-2、VEGF 的表达增高,促进肝癌细胞的增殖生长。蜈蚣提取物对肝癌细胞 STAT3 相关信号通路的调控主要通过抑制 STAT3 的磷酸化过程来实现,Western blotting 结果显示蜈蚣提取物主要降低 p-STAT3 蛋白表达,而 STAT3 蛋白表达降低不明显,表明蜈蚣提取物能阻断 STAT3 蛋白的活化过程。进一步的实验结果显示 STAT3 的下游调控靶蛋白 VEGF、MMP-2 的表达水平在蜈蚣提取物达到 500 $\mu\text{g/mL}$ 剂量水平时显著降低,与 5-FU 作用无明显差别,VEGF、MMP-2 表达水平下降,可降低肝癌细胞的增殖、侵袭及转移能力。

综上所述,本实验证实蜈蚣提取物能够体外抑制肝癌 HepG2 细胞的增殖生长,明显降低肝癌细胞的侵袭能力。研究结果提示高质量浓度蜈蚣提取物可通过抑制 STAT3 蛋白的磷酸化从而降低下游靶蛋白 MMP-2、VEGF 的表达,从而抑制肝癌细胞的生长增殖及转移侵袭。阻断 STAT3 信号通路的活化是蜈蚣提取物发挥肝癌作用的重要作用机制之一。

参考文献

- [1] 赵嵌嵌,张维东,武利存,等. 蝎毒多肽提取物联合雷帕霉素抑制 H22 肝癌肿瘤血管生成的作用机制研究[J]. 中草药, 2015, 46(9): 1343-1347.
- [2] Wang T, Liu J, Xiao X Q. Cantharidin inhibits angiogenesis by suppressing VEGF-induced JAK1/STAT3, ERK and AKT signaling pathways [J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 38(2): 282-289.
- [3] 刘展华. 周岱翰教授治疗原发性肝癌验案 2 则 [J]. 中医药信息, 2015, 32(5): 35-37.
- [4] 韩莉,周永芹,韩钰. 蜈蚣提取物诱导宫颈癌 HeLa 细胞凋亡及其机制的研究 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(9): 2109-2111.
- [5] 陈园,艾小佳,王志琪,等. 蜈蚣提取物抗肺癌活性的体内外实验研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(5): 61-63.
- [6] Subramaniam A, Shanmugam M K, Perumall E, et al. Potential role of signal transducer and activator of transcription (STAT) signaling pathway in inflammation, survival, proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1835(1): 46-60.
- [7] Lee Y H, Yun Y. HBx protein of hepatitis B virus activates Jak1-STAT signaling [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(39): 25510-25515.
- [8] Yeh C M, Chang L Y, Lin S H, et al. Epigenetic silencing of the NR4A3 tumor suppressor, by aberrant JAK/STAT signaling, predicts prognosis in gastric cancer [J]. *Scientific Rep*, 2016, 8(6): 31690.
- [9] Hosford S R, Miller T W. Clinical potential of novel therapeutic targets in breast cancer: CDK4/6, Src, JAK/STAT, PARP, HDAC, and PI3K/AKT/mTOR pathways [J]. *Pharmacog Personal Med*, 2014, 7: 203-215.
- [10] 刘波,王洪林,宋立,等. Janus 激酶抑制剂 AG490 对人肝癌 SMMC-7721 细胞侵袭转移的影响 [J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(18): 1960-1963.
- [11] Yallapu M M, Khan S, Maher D M, et al. Anti-cancer activity of curcumin loaded nanoparticles in prostate cancer [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(30): 8635-8648.
- [12] 刘鹏,王勤. 以 STAT3 信号通路为靶点探索半枝莲提取物的抗癌分子机制 [D]. 兰州: 兰州大学, 2014.
- [13] 沈迪,李崇慧,周晋华,等. 复方守宫散对 Lewis 肺癌小鼠 JAK2-STAT3 信号通路的影响 [J]. 中国医药科学, 2014, 4(9): 17-21.
- [14] Timme S, Ihde S, Fichter C D, et al. STAT3 expression, activity and functional consequences of STAT3 inhibition in esophageal squamous cell carcinomas and Barrett's adenocarcinomas [J]. *Oncogene*, 2014, 33(25): 3256-3266.
- [15] Judd L M, Menheniott T R, Ling H, et al. Inhibition of the JAK2/STAT3 pathway reduces gastric cancer growth *In vitro* and *in vivo* [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e95993.
- [16] Cai S Q, Zheng M, Chen L R. Overexpression of phosphorylated-STAT3 correlated with the invasion and metastasis of cutaneous squamous cell carcinoma [J]. *J Dermatol*, 2005, 32(5): 354-360.
- [17] Zhang C H, Xu G L, Jia W D, et al. Activation of STAT3 signal path-way correlates with twist and E-Cadherin expression in hepatocellular carcinoma and their clinical significance [J]. *J Surges*, 2010, 166(1): 236-246.
- [18] Theruvath T P, Jones J A, Ikonomidis J S. Matrix metalloproteinases and descending aortic aneurysms: parity, disparity, and switch [J]. *J Card Surg*, 2011, 191(2): 133-140.
- [19] Tekte C, Nygren M K, Chen Y W, et al. B7-H3 contributes to the meta-static capacity of melanoma cells by modulation of known metastasis-associated genes [J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(1): 216-226.
- [20] Jablonska J, Leschner S, Westphal K, et al. Neutrophils responsive to endogenous IFN-beta regulate tumor angiogenesis and growth in mouse tumor model [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(4): 1151-1164.