

## 鸦胆子苦醇调节 cGAS-STING 信号通路对肝癌荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫功能的影响

李 赟, 孙燕玲, 李涛岚, 吴 喆, 廖文莉  
湖北科技学院, 湖北 咸宁 437100

**摘要:** 目的 探讨鸦胆子苦醇调节环磷酸鸟苷-腺苷酸合成酶 (cGAS)-干扰素基因刺激因子 (STING) 信号通路对肝癌 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫功能的影响。方法 通过左前肢腋窝 sc 接种 H22 细胞建立荷瘤小鼠模型, 随机分为模型组, 鸦胆子苦醇低、中、高剂量 (0.916、1.832、3.664 mg·kg<sup>-1</sup>, ig 给药) 组, 鸦胆子苦醇 (3.664 mg·kg<sup>-1</sup>, ig 给药) + RU.521 (5 mg·kg<sup>-1</sup>, ip 给药) 组。干预结束后, 取胸腺、脾脏、肿瘤称质量, 测定小鼠胸腺和脾脏指数、抑瘤率; T 淋巴细胞转化实验检测 T 淋巴细胞增殖指数; 检测巨噬细胞吞噬鸡红细胞的能力; 收集血清, 试剂盒法检测白细胞介素-2 (IL-2)、肿瘤坏死因子-α (TNF-α) 水平; Western blotting 法检测肿瘤组织中 cGAS、STING 蛋白表达水平。结果 与对照组相比, 模型组小鼠胸腺和脾脏指数、吞噬指数、吞噬百分率、T 淋巴细胞增殖指数、IL-2 和 TNF-α 水平显著下降 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 鸦胆子苦醇低、中、高剂量组小鼠胸腺和脾脏指数、吞噬指数、吞噬百分率、T 淋巴细胞增殖指数、IL-2 和 TNF-α 水平、cGAS 和 STING 蛋白表达显著增加 ( $P < 0.05$ ), 瘤质量显著降低 ( $P < 0.05$ ), 且作用均呈现剂量相关性; 与鸦胆子苦醇高剂量组相比, 鸦胆子苦醇 + RU.521 组胸腺和脾脏指数、吞噬指数、吞噬百分率、T 淋巴细胞增殖指数、IL-2 和 TNF-α 水平、cGAS 和 STING 蛋白表达显著下降 ( $P < 0.05$ ), 瘤质量显著增加 ( $P < 0.05$ )。结论 鸦胆子苦醇通过激活 cGAS-STING 信号通路抑制肝癌 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长, 增强其免疫功能。

**关键词:** 鸦胆子苦醇; cGAS-STING 信号通路; 肝癌 H22; 荷瘤小鼠; 免疫功能

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 09-1949-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.09.015

## Impacts of brusatol on tumor growth and immune function in hepatoma bearing mice by regulating cGAS-STING signal pathway

LI Yun, SUN Yanling, LI Taolan, WU Zhe, LIAO Wenli  
Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, China

**Abstract: Objective** To investigate the impacts of brusatol on tumor growth and immune function of H22 hepatoma bearing mice by regulating the cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase-stimulator of interferon gene (STING) signal pathway. **Methods** The H22 tumor-bearing mice model was established by subcutaneous inoculation of H22 in the left forearm armpit. They were randomly grouped into model group, brusatol low, medium, high dose (0.916, 1.832, and 3.664 mg·kg<sup>-1</sup>) group, and brusatol (3.664 mg·kg<sup>-1</sup>) + cGAS inhibitor RU.521 (5 mg·kg<sup>-1</sup>) group. After the intervention, the thymus, spleen, and tumor were weighed, and the thymus and spleen indices and tumor inhibition rate of the mice were measured. Detection of T lymphocyte proliferation index using T lymphocyte transformation assay. Detect the ability of macrophages to engulf chicken red blood cells. Collect serum and detect interleukin-2 (IL-2) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) using a kit method. Western blotting method was used to detect the expression levels of cGAS and STING proteins in tumor tissue. **Results** Compared with the control group, the thymus index, spleen index, phagocytic index, phagocytic percentage, proliferative index, the levels of IL-2 and TNF-α in the model group were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the thymus index, spleen index, phagocytic index, phagocytic percentage, proliferative index, the levels of IL-2 and TNF-α, the expression of cGAS and STING in brusatol low, medium, high dose groups were significantly increased, the tumor weight was significantly decreased, and showed a dose-dependent relationship between groups ( $P < 0.05$ ). Compared with brusatol high dose group, the thymus index, spleen index, phagocytic index,

收稿日期: 2023-03-31

基金项目: 2020 年度五官医学院专项科研项目 (2020WG07)

第一作者: 李 赟 (1981—), 男, 本科, 研究方向为肿瘤治疗。E-mail: 19e7zuo@163.com

phagocytic percentage, proliferative index, the levels of IL-2 and TNF- $\alpha$ , the expression of cGAS and STING in brusatol high dose group + RU.521 group were significantly decreased, the tumor weight were significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Brusatol can inhibit tumor growth and enhance immune function of H22 hepatoma bearing mice by activating cGAS-STING signal pathway.

**Key words:** brusatol; cGAS-STING signal pathway; hepatocellular carcinoma H22; tumor bearing mice; immune function

肝癌作为常见的消化道恶性肿瘤,2020年居全球癌症死亡原因第2位。即使各种治疗方法不断进步,肝癌患者的5年生存率也只有20%。因此肝癌治疗的研究一直备受关注<sup>[1]</sup>。鸦胆子苦醇是从鸦胆子油中提取的具有生物活性的三萜类化合物,具有抗疟疾、减少炎症和抵抗病毒入侵等多种生物效应<sup>[2]</sup>。随着医学化学的快速发展,鸦胆子苦醇被认为是多种类型肿瘤细胞的有效抗肿瘤剂<sup>[3-4]</sup>。Ye等<sup>[5]</sup>研究证明鸦胆子苦醇可有效抑制肝癌 Bel7404 细胞增殖、肿瘤侵袭和迁移,并诱导了凋亡,但其作用机制仍需探索。环磷酸鸟苷-腺苷酸合成酶(cGAS)被认为是模式识别受体和直接细胞质 dsDNA 传感器,当 cGAS 与 dsDNA 结合时,cGAS-干扰素基因刺激因子(STING)信号通路被激活,诱导细胞因子的表达,触发先天免疫反应,因此 cGAS-STING 信号通路可成为慢性炎症性疾病甚至癌症的潜在治疗靶点<sup>[6]</sup>。本研究旨在探索鸦胆子苦醇调节 cGAS-STING 信号通路对肝癌 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫功能的影响。

## 1 材料

### 1.1 实验动物及瘤株

小鼠肝癌 H22 细胞,四川大学华西医学中心提供。

SPF级昆明种雄性小鼠,7周龄,体质量18~20 g,由云南达生生物科技有限公司提供,实验动物生产许可证号 SCXK(滇)2022-0003。动物被饲养在 SPF 环境中,温度(20 $\pm$ 4) $^{\circ}$ C、湿度(50 $\pm$ 10)%、12 h/12 h 明暗周期,在圈养期间,小鼠可正常的饮食。该研究已获得动物护理和使用委员会的批准(审批号 2201289)。

### 1.2 主要试剂与仪器

鸦胆子苦醇(质量分数 $\geq$ 98%,批号 223827),上海陶术生物科技有限公司;cGAS 抑制剂 RU.521, Selleckchem 公司;白细胞介素-2(IL-2)、肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )ELISA 试剂盒,晶美生物工程有限公司;CCK-8 试剂盒,碧云天生物技术有限公司;cGAS、STING 一抗,Abcam 公司。

BSA224S 型电子天平,德国赛多利斯公司;酶标仪,科迪云亨生物科技有限公司。

## 2 方法

### 2.1 H22 荷瘤小鼠模型的建立及干预

参照文献报道方法<sup>[7]</sup>建立 H22 荷瘤小鼠模型:复苏小鼠肝癌细胞 H22,并于小鼠腹腔接种 8 d,无菌条件抽取小鼠腹水,稀释后调整至细胞浓度为  $1 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ ,90 只小鼠随机选取 75 只进行左前肢腋窝 sc 接种 0.2 mL,随后将 H22 荷瘤模型小鼠随机分为模型组,鸦胆子苦醇低、中、高剂量(0.916、1.832、3.664  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组,鸦胆子苦醇 + RU.521 (3.664  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  + 5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组,并以未接种 H22 细胞的小鼠作为对照组。

鸦胆子苦醇低、中、高剂量组 ig 0.916、1.832、3.664  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  鸦胆子苦醇,并 ip 等体积的 0.9% 氯化钠溶液干预<sup>[8]</sup>;鸦胆子苦醇 + RU.521 组 ig 3.664  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  鸦胆子苦醇之前,ip 5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  RU.521 干预<sup>[9]</sup>;模型组及对照组分别 ig、ip 等体积的 0.9% 氯化钠溶液,每天 1 次,连续 10 d。

### 2.2 测定小鼠胸腺、脾脏指数以及抑瘤率

每组随机选取 10 只小鼠,末次给药 24 h 后,称量小鼠体质量;眼球采血,离心取血清用于 ELISA 检测;处死小鼠,摘取脾脏、胸腺称质量,计算脾脏、胸腺指数。

胸腺(脾脏)指数 = 胸腺(脾脏)质量(mg)/体质量(g)

取肿瘤组织称质量,分别计算抑瘤率。

抑瘤率 = (模型组平均瘤质量 - 给药组平均瘤质量)/模型组平均瘤质量

### 2.3 ELISA 法检测血清中 IL-2、TNF- $\alpha$ 水平

取“2.2”项中血清样本,按照试剂盒操作检测血清中细胞因子 IL-2、TNF- $\alpha$  的水平。

### 2.4 检测 T 淋巴细胞转化能力

取出脾脏,制备脾淋巴细胞悬液,在空白孔(10  $\mu\text{L}$  培养液)和实验孔(10  $\mu\text{L}$  0.1  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  刀豆蛋白)分别加入 90  $\mu\text{L}$  脾细胞悬液,48 h 后加入 CCK-8 试剂,450 nm 波长处检测吸光度(A)值,计算 T 淋巴细胞增殖指数。

T 淋巴细胞增殖指数 =  $A_{\text{实验}} / A_{\text{空白}}$

### 2.5 巨噬细胞吞噬功能检测

每组剩余 5 只小鼠,末次给药当日 ip 2% 淀粉 1 mL,24 h 后 ip 给予 0.5 mL 的 5% 鸡红细胞,之后

处死小鼠,吸出腹腔液涂抹在载玻片上,经孵育、漂洗后,用丙酮-甲醇溶液固定,然后经Giemsa染色、磷酸盐缓冲液分色后,计数200个巨噬细胞,按照吞噬红细胞的巨噬细胞数/200,计算巨噬细胞吞噬百分率;以被吞噬的鸡红细胞数/200×1/2,计算吞噬指数。

## 2.6 Western blotting 检测相关蛋白表达

取各组小鼠肿瘤组织,匀浆后,使用蛋白质提取试剂盒提取总蛋白质,并使用BCA法定量蛋白质浓度。使用10% SDS-PAGE分离每个样品中的总蛋白质,并转移至PVDF膜上。在20~25℃下封闭膜1.5 h,在4℃下用cGAS、STING一抗孵育过夜,随后在室温下用合适的第二抗体孵育1 h,以β-actin作为内参对照,Quantity One软件分析蛋白表达。

## 2.7 统计学分析

采用SPSS 27.0软件分析实验数据,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,单因素方差分析用于多组间比较,以SNK-*q*检验进一步两两比较。

## 3 结果

### 3.1 鸦胆子苦醇对小鼠胸腺、脾脏指数的影响

与对照组相比,模型组小鼠胸腺、脾脏指数均显著下降( $P<0.05$ );与模型组相比,鸦胆子苦醇低、中、高剂量组小鼠胸腺、脾脏指数均显著增加( $P<0.05$ ),且作用呈剂量相关性;与鸦胆子苦醇高剂量组相比,鸦胆子苦醇+RU.521组小鼠胸腺、脾脏指数均显著下降( $P<0.05$ )。见表1。

表1 各组小鼠胸腺、脾脏指数的比较( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 1 Comparison of thymus and spleen indices in each group of mice ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	胸腺指数/ (mg·g <sup>-1</sup> )	脾脏指数/ (mg·g <sup>-1</sup> )
对照	—	2.56±0.26	6.88±0.72
模型	—	1.26±0.13 <sup>*</sup>	3.77±0.38 <sup>*</sup>
鸦胆子苦醇	0.916	1.65±0.17 <sup>#</sup>	4.82±0.49 <sup>#</sup>
	1.832	1.92±0.21 <sup>#</sup>	5.76±0.58 <sup>#</sup>
	3.664	2.48±0.26 <sup>#</sup>	6.75±0.68 <sup>#</sup>
鸦胆子苦醇+RU.521	3.664+5	1.36±0.14 <sup>△</sup>	3.84±0.41 <sup>△</sup>

与对照组比较:<sup>\*</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较:<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与鸦胆子苦醇高剂量组比较:<sup>△</sup> $P<0.05$

<sup>\*</sup> $P<0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P<0.05$  vs model group; <sup>△</sup> $P<0.05$  vs brusatol high dose group

### 3.2 鸦胆子苦醇对小鼠肿瘤生长的影响

与模型组相比,鸦胆子苦醇低、中、高剂量组小鼠瘤质量均显著降低( $P<0.05$ ),且作用呈剂量相关

性,高剂量组抑瘤率达45.34%;与鸦胆子苦醇高剂量组相比,鸦胆子苦醇+RU.521组小鼠瘤质量显著增加( $P<0.05$ )。见表2。

### 3.3 鸦胆子苦醇对小鼠IL-2、TNF-α水平的影响

与对照组相比,模型组小鼠IL-2、TNF-α水平均显著下降( $P<0.05$ );与模型组相比,鸦胆子苦醇低、中、高剂量组小鼠IL-2、TNF-α水平显著增加( $P<0.05$ ),且作用呈剂量相关性;与鸦胆子苦醇高剂量组相比,鸦胆子苦醇+RU.521组IL-2、TNF-α水平均显著下降( $P<0.05$ )。见表3。

表2 各组小鼠瘤质量、抑瘤率的比较( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 2 Comparison of tumor weight and tumor inhibition rate of mice in each groups ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	瘤质量/g	抑瘤率/%
对照	—	—	—
模型	—	3.46±0.35	—
鸦胆子苦醇	0.916	2.14±0.22 <sup>#</sup>	17.66
	1.832	1.22±0.13 <sup>#</sup>	24.37
	3.664	0.49±0.05 <sup>#</sup>	45.34
鸦胆子苦醇+RU.521	3.664+5	3.12±0.31 <sup>△</sup>	1.28

与模型组比较:<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与鸦胆子苦醇高剂量组比较:<sup>△</sup> $P<0.05$   
<sup>#</sup> $P<0.05$  vs model group; <sup>△</sup> $P<0.05$  vs brusatol high dose group

表3 各组小鼠IL-2、TNF-α水平的比较( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 3 Comparison of IL-2 and TNF-α of mice in each group ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	IL-2/ (pg·mL <sup>-1</sup> )	TNF-α/ (pg·mL <sup>-1</sup> )
对照	—	10.58±1.07	15.67±1.57
模型	—	5.26±0.53 <sup>*</sup>	7.22±0.73 <sup>*</sup>
鸦胆子苦醇	0.916	6.88±0.70 <sup>#</sup>	9.55±0.97 <sup>#</sup>
	1.832	8.05±0.81 <sup>#</sup>	12.08±1.21 <sup>#</sup>
	3.664	10.22±1.03 <sup>#</sup>	14.37±1.44 <sup>#</sup>
鸦胆子苦醇+RU.521	3.664+5	5.84±0.59 <sup>△</sup>	8.05±0.81 <sup>△</sup>

与对照组比较:<sup>\*</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较:<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与鸦胆子苦醇高剂量组比较:<sup>△</sup> $P<0.05$

<sup>\*</sup> $P<0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P<0.05$  vs model group; <sup>△</sup> $P<0.05$  vs brusatol high dose group

### 3.4 鸦胆子苦醇对小鼠T淋巴细胞增殖指数的影响

与对照组相比,模型组小鼠T淋巴细胞增殖指数显著下降( $P<0.05$ );与模型组相比,鸦胆子苦醇低、中、高剂量组小鼠T淋巴细胞增殖指数显著增加( $P<0.05$ ),且作用呈剂量相关性;与鸦胆子苦醇高剂量组相比,鸦胆子苦醇+RU.521组T淋巴细胞增殖指数显著下降( $P<0.05$ )。见表4。

表4 各组小鼠T淋巴细胞增殖指数的比较( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	增殖指数/%
对照	—	2.24±0.23
模型	—	1.06±0.11*
鸦胆子苦醇	0.916	1.38±0.14 <sup>#</sup>
	1.832	1.77±0.18 <sup>#</sup>
	3.664	2.18±0.22 <sup>#</sup>
鸦胆子苦醇+RU.521	3.664+5	1.18±0.12 <sup>△</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与鸦胆子苦醇高剂量组比较: <sup>△</sup> $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>△</sup> $P < 0.05$  vs brusatol high dose group

### 3.5 鸦胆子苦醇对小鼠巨噬细胞吞噬功能的影响

与对照组相比,模型组小鼠吞噬指数、吞噬百分率均显著下降( $P < 0.05$ );与模型组相比,鸦胆子苦醇低、中、高剂量组小鼠吞噬指数、吞噬百分率显著增加,组间呈现剂量相关性( $P < 0.05$ );与鸦胆子苦醇高剂量组相比,鸦胆子苦醇+RU.521组吞噬指数、吞噬百分率均显著下降( $P < 0.05$ )。见表5。

表5 各组小鼠吞噬指数、吞噬百分率的比较( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	吞噬百分率/%	吞噬指数
对照	—	37.52±3.76	1.21±0.13
模型	—	14.24±1.53*	0.41±0.05*
鸦胆子苦醇	0.916	19.05±1.93 <sup>#</sup>	0.65±0.08 <sup>#</sup>
	1.832	25.27±2.53 <sup>#</sup>	0.89±0.09 <sup>#</sup>
	3.664	34.42±3.48 <sup>#</sup>	1.18±0.12 <sup>#</sup>
鸦胆子苦醇+RU.521	3.664+5	17.94±1.81 <sup>△</sup>	0.55±0.06 <sup>△</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与鸦胆子苦醇高剂量组比较: <sup>△</sup> $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>△</sup> $P < 0.05$  vs brusatol high dose group

### 3.6 鸦胆子苦醇对小鼠cGAS、STING蛋白的表达水平的影响

与模型组相比,鸦胆子苦醇低、中、高剂量组小鼠cGAS、STING蛋白表达显著增加,组间呈现剂量相关性( $P < 0.05$ );与鸦胆子苦醇高剂量组相比,鸦胆子苦醇+RU.521组cGAS、STING蛋白表达均显著下降( $P < 0.05$ )。见图1、表6。

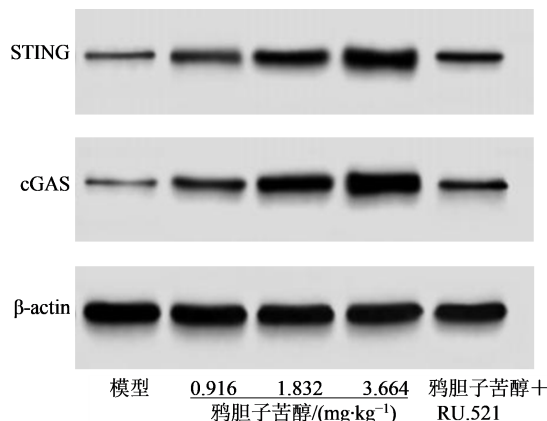


图1 肿瘤组织中cGAS、STING蛋白表达

Fig. 1 Expression of cGAS and STING proteins in tumor tissues

表6 肿瘤组织中cGAS、STING表达的比较( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	cGAS/ β-actin	STING/ β-actin
模型	—	0.18±0.02	0.22±0.03
鸦胆子苦醇	0.916	0.31±0.04 <sup>#</sup>	0.48±0.05 <sup>#</sup>
	1.832	0.73±0.08 <sup>#</sup>	0.68±0.07 <sup>#</sup>
	3.664	1.15±0.12 <sup>#</sup>	0.94±0.10 <sup>#</sup>
鸦胆子苦醇+RU.521	3.664+5	0.28±0.03 <sup>△</sup>	0.34±0.04 <sup>△</sup>

与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与鸦胆子苦醇高剂量组比较: <sup>△</sup> $P < 0.05$

<sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>△</sup> $P < 0.05$  vs brusatol high dose group

## 4 讨论

肝癌作为一种常见的恶性肿瘤,其传统治疗通常包括手术切除、化疗和放疗,然而,有些患者不适合手术切除,而且临床上应用的化疗药物不是特定的靶点,通常具有严重的副作用<sup>[10]</sup>。因此寻找新的和更有效的用于预防和靶向治疗肝癌的药物是非常需要的。

鸦胆子苦醇是从鸦胆子中提取的苦木素类成分,通常用于治疗阿米巴痢疾、癌症和疟疾<sup>[11]</sup>。据报道鸦胆子苦醇具有多种药理活性,可抑制鼻咽癌细胞的生长,促进其凋亡,体内实验证明鸦胆子苦醇可显著抑制肿瘤生长,成为治疗鼻咽癌的候选药物<sup>[12]</sup>。以U-251胶质瘤细胞为研究对象时,鸦胆子苦醇通过抑制PI3K/AKT/mTOR通路,从而抑制β-淀粉样蛋白引起的神经毒性,减轻U-251细胞损伤<sup>[13]</sup>。值得关注的是,Wang等<sup>[14]</sup>研究提出富含鸦胆子苦醇的鸦胆子油通过抑制移植性肝癌H22小鼠的生长,表现出显著的抗肝癌活性,但其机制尚

未阐明。基于以上调研,本研究推测鸦胆子苦醇可能对肝癌H22荷瘤小鼠发挥抗肿瘤作用。本研究结果发现经鸦胆子苦醇干预后,小鼠胸腺、脾脏指数显著增加,瘤质量显著降低,而胸腺(脾)指数的改变间接反映机体免疫功能的状况<sup>[15]</sup>,表明鸦胆子苦醇可通过提高免疫功能抑制肿瘤生长。此外,T淋巴细胞主要参与介导细胞免疫应答,受抗原刺激后的增殖是淋巴细胞活化的重要特征之一<sup>[7]</sup>,T细胞分泌的细胞因子如IL-2在抗肿瘤免疫中起着重要的调节作用<sup>[16]</sup>。衡量机体免疫功能的重要指标还可以通过巨噬细胞的吞噬能力评价,而反映吞噬功能的强弱可通过巨噬细胞吞噬百分率和吞噬指数的大小进行判断<sup>[17]</sup>。此外,巨噬细胞还可以产生细胞因子如TNF- $\alpha$ ,是目前最强的抗肿瘤活性因子<sup>[18]</sup>。本研究发现鸦胆子苦醇干预后,小鼠吞噬指数、吞噬百分率、T淋巴细胞增殖指数、IL-2、TNF- $\alpha$ 水平均增加,表明鸦胆子苦醇的抗肿瘤机制可能通过增强其免疫功能实现。

cGAS是一种先天免疫传感器,可以识别各种细胞质双链dsDNA,包括病毒、细菌、线粒体、微核和反元件起源DNA,可触发STING依赖性信号并通过进一步产生cGAMP诱导免疫反应,多项研究证实cGAS-STING通路在抗癌免疫中起着关键作用<sup>[19]</sup>。Thomsen等<sup>[20]</sup>提出cGAS-STING通路的调节可以影响肝癌的肿瘤进展,并有可能用于肝癌患者的治疗。Qi等<sup>[21]</sup>提出cGAS-STING通路成员具有作为肝癌患者的预后生物标志物和免疫治疗靶点的潜力。本研究发现经鸦胆子苦醇干预后,cGAS、STING表达增加,小鼠免疫功能增强,肿瘤生长被抑制,推测鸦胆子苦醇通过激活cGAS-STING通路实现增强H22荷瘤小鼠免疫功能,进而抑制肿瘤生长。为进一步验证推测,实验采用cGAS-STING通路抑制剂RU.521进行验证,结果发现RU.521逆转了鸦胆子苦醇对H22荷瘤小鼠的抗肿瘤作用,表明鸦胆子苦醇提高H22荷瘤小鼠免疫功能,抑制肿瘤生长,与激活cGAS-STING通路有关。

鸦胆子苦醇通过激活cGAS-STING信号通路抑制肝癌H22荷瘤小鼠肿瘤生长,增强其免疫功能,但由于机制复杂,仍需继续探索。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Anwanwan D, Singh S K, Singh S, et al. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873(1): 188314.
- [2] Cai S J, Liu Y, Han S E, et al. Brusatol, an NRF<sub>2</sub> inhibitor for future cancer therapeutic [J]. *Cell Biosci*, 2019, 9: 45.
- [3] Lu R J, Zhao G Z, Jiang R, et al. Brusatol inhibits proliferation and metastasis of colorectal cancer by targeting and reversing the RhoA/ROCK1 pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 7132159.
- [4] 赵韦欣,王晴,王梦齐,等.基于网络药理学和分子对接探讨鸦胆子治疗结直肠癌的作用机制[J].*中草药*, 2023, 54(6): 1850-1859.  
Mechanism of *Brucea javanica* in treatment of colorectal cancer based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(6): 1850-1859.
- [5] Ye R F, Dai N G, He Q K, et al. Comprehensive anti-tumor effect of Brusatol through inhibition of cell viability and promotion of apoptosis caused by autophagy via the PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 105: 962-973.
- [6] Chen B J, Rao X Y, Wang X Y, et al. cGAS-STING signaling pathway and liver disease: From basic research to clinical practice [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 719644.
- [7] 安方玉,刘雪松,颜春鲁,等.黄芪总皂苷对H22荷瘤小鼠肿瘤抑制作用及机制[J].*中国公共卫生*, 2017, 33(4): 596-598.  
An F Y, Liu X S, Yan C L, et al. Inhibitive effect of total astragalus saponin on tumor and its mechanism in H22-bearing mice [J]. *Chin J Public Health*, 2017, 33(4): 596-598.
- [8] Ding Y S, Tang W B, Pei F, et al. Brusatol derivative-34 attenuates allergic airway inflammation via inhibition of the spleen tyrosine kinase pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 587417.
- [9] Xu Q Q, Xiong H L, Zhu W X, et al. Small molecule inhibition of cyclic GMP-AMP synthase ameliorates sepsis-induced cardiac dysfunction in mice [J]. *Life Sci*, 2020, 260: 118315.
- [10] Liu Y H, Qin H Y, Zhong Y Y, et al. Neutral polysaccharide from *Panax notoginseng* enhanced cyclophosphamide antitumor efficacy in hepatoma H22-bearing mice [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 37.
- [11] Panieri E, Saso L. Potential applications of NRF<sub>2</sub> inhibitors in cancer therapy [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 8592348.
- [12] Guo S B, Zhang J L, Wei C R, et al. Anticancer effects of brusatol in nasopharyngeal carcinoma through suppression of the Akt/mTOR signaling

- pathway [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2020, 85(6): 1097-1108.
- [13] Liu X, Xu H W, Zhang Y Q, et al. Brusatol inhibits amyloid- $\beta$ -induced neurotoxicity in U-251 cells via regulating the Nrf2/HO-1 pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6): 10556-10563.
- [14] Wang T T, Dou Y X, Lin G S, et al. The anti-hepatocellular carcinoma effect of *Brucea javanica* oil in ascitic tumor-bearing mice: The detection of brusatol and its role [J]. *Biomed Pharm*, 2021, 134: 111122.
- [15] 代海华, 宋扬, 陈丹丹. 刺参酸性黏多糖对5-FU治疗小鼠肝癌的减毒增效作用 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2015, 22(1)23-27
- Dai H H, Song Y, Chen D D. Attenuated and synergized action of *Stichopus japonicus* acid mucopolysaccharide combined with 5-FU on hepatocarcinoma-bearing mouse [J]. *Chin J Cancer Prev Treat*, 2015, 22(1)23-27
- [16] 张丹, 孙玉红, 李茂, 等. 美洲大蠊多肽提取物对荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫功能的影响 [J]. *中国新药杂志*, 2015, 24(6): 681-686.
- Zhang D, Sun Y H, Li M, et al. Effects of *Periplaneta americana* polypeptide extracts on tumor growth and immune function in tumor-bearing mice [J]. *Chin J New Drugs*, 2015, 24(6): 681-686.
- [17] 税璘, 刘明华, 税丕先, 等. 金钗石斛破壁粉对荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫功能的影响 [J]. *中国新药杂志*, 2018, 27(16): 1896-1901.
- Shui L, Liu M H, Shui P X, et al. Effects of *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder on tumor growth and immune function of tumor-bearing mice [J]. *Chin J New Drugs*, 2018, 27(16): 1896-1901.
- [18] 唐燕, 张丹, 孟祥林, 等. 白芍总苷脂质体对荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫功能的影响 [J]. *中国新药杂志*, 2014, 23(21): 2547-2551.
- Tang Y, Zhang D, Meng X L, et al. Effects of liposomes of total glucosides of paeonia on tumor growth and immune function in tumor-bearing mice [J]. *Chin J New Drugs*, 2014, 23(21): 2547-2551.
- [19] Gao Y P, Zhang N N, Zeng Z H, et al. LncRNA PCAT1 activates SOX2 and suppresses radioimmune responses via regulating cGAS/STING signalling in non-small cell lung cancer [J]. *Clin Transl Med*, 2022, 12(4): e792.
- [20] Thomsen M K, Skouboe M K, Boullaran C, et al. The cGAS-STING pathway is a therapeutic target in a preclinical model of hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 2020, 39(8): 1652-1664.
- [21] Qi Z H, Yan F, Chen D T, et al. Identification of prognostic biomarkers and correlations with immune infiltrates among cGAS-STING in hepatocellular carcinoma [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(10): BSR20202603.

[责任编辑 兰新新]