

基于PI3K/Akt/mTOR信号通路联合多组学探讨异绿原酸A抗肝癌的作用机制^Δ

苏巍巍^{1*}, 贾卫兵², 任厚健¹, 苏县辉³, 高慧洁⁴, 霍忠超⁴, 侯鑫³, 王珍^{3#} (1. 河北工程大学临床医学院, 河北邯郸 056000; 2. 邯郸市中心医院全科医学科, 河北邯郸 056000; 3. 河北工程大学医学院, 河北邯郸 056000; 4. 河北工程大学附属医院肿瘤科, 河北邯郸 056000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)10-1258-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.10.04



摘要 **目的** 基于磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)信号通路和多组学技术探讨异绿原酸A抗肝癌的作用机制。**方法** 分别考察0(对照组)、0.25、0.5 mg/mL的异绿原酸A干预人肝癌HepG2细胞48 h的侵袭率、迁移率, 细胞中含DEP结构域的mTOR相互作用蛋白(DEPTOR)mRNA和mTOR、PI3K、第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源物(PTEN)蛋白表达量以及Akt蛋白磷酸化水平。采用液相色谱-串联质谱法进行代谢组学检测, 筛选差异代谢物并进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析; 采用RNA测序进行转录组学检测, 筛选差异表达基因并进行基因本体(GO)功能注释及KEGG通路富集分析。**结果** 与对照组比较, 0.25、0.5 mg/mL异绿原酸A干预48 h能显著抑制HepG2细胞侵袭率和迁移率, 显著上调DEPTOR mRNA和PTEN蛋白表达量, 显著下调PI3K蛋白表达量和Akt蛋白磷酸化水平(0.25 mg/mL异绿原酸A除外)($P < 0.05$)。多组学分析共筛选出304个差异代谢物、212个差异表达基因; KEGG通路富集分析提示, 异绿原酸A主要通过抑制PI3K/Akt信号通路, 协同mTOR信号通路、铁死亡及磷酸戊糖途径、嘌呤/嘧啶代谢等代谢重编程过程, 对HepG2细胞生长关键信号进行调控。**结论** 异绿原酸A的抗肝癌作用与阻断PI3K/Akt/mTOR信号通路异常激活相关, 此外还可能与抑制磷酸戊糖途径及嘌呤/嘧啶代谢、诱导铁死亡等相关。

关键词 异绿原酸A; 肝癌; PI3K/Akt/mTOR信号通路; 代谢重编程; 代谢组学; 转录组学

Mechanism of isochlorogenic acid A against hepatocellular carcinoma based on PI3K/Akt/mTOR signaling pathway combined with multi-omics

SU Weiwei¹, JIA Weibing², REN Houjian¹, SU Xianhui³, GAO Huijie⁴, HUO Zhongchao⁴, HOU Xin³, WANG Zhen³ (1. School of Clinical Medicine, Hebei University of Engineering, Hebei Handan 056000, China; 2. Dept. of General Medicine, Handan Central Hospital, Hebei Handan 056000, China; 3. School of Medicine, Hebei University of Engineering, Hebei Handan 056000, China; 4. Dept. of Oncology, the Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Hebei Handan 056000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the mechanism of isochlorogenic acid A against hepatocellular carcinoma based on the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) signaling pathway and multi-omics technology. **METHODS** The invasion rate and migration rate of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells after 48 h of intervention with 0 (control group), 0.25 and 0.5 mg/mL isochlorogenic acid A were examined; mRNA expression of DEP domain-containing mTOR-interacting protein (DEPTOR), the protein expressions of mTOR, PI3K and phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten (PTEN), as well as the phosphorylation level of Akt protein were determined in the cells. Metabolomics analysis was performed using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and differential metabolites were screened and subjected to Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis; transcriptomics

monitoring was conducted by RNA sequencing, and differentially expressed genes were screened and subjected to gene ontology (GO) and KEGG pathway enrichment analyses. **RESULTS** Compared with the control group, intervention with 0.25 and 0.5 mg/mL isochlorogenic acid A for 48 h significantly inhibited the invasion rate and migration rate of

^Δ 基金项目 国家自然科学基金青年科学基金项目 (No. 32100569)

* 第一作者 主治医师, 硕士研究生。研究方向: 肿瘤学。E-mail: 1603846396@qq.com

通信作者 副教授, 硕士生导师, 博士。研究方向: 肿瘤学。E-mail: wangzhen@hebeu.edu.cn

HepG2 cells, significantly up-regulated the mRNA expression of DEPTOR and the protein expression of PTEN, and significantly down-regulated the protein expression of PI3K and the phosphorylation level of Akt protein (except for 0.25 mg/mL isochlorogenic acid A) ($P<0.05$). A total of 304 differential metabolites and 212 differentially expressed genes were screened by multi-omics analysis. KEGG pathway enrichment analysis suggested that isochlorogenic acid A regulated key signaling of HepG2 cell growth mainly by inhibiting the PI3K/Akt signaling pathway, synergizing with metabolic reprogramming such as mTOR signaling pathway, ferroptosis, pentose phosphate pathway and purine/pyrimidine metabolism. **CONCLUSIONS** The anti-hepatocellular carcinoma effect of isochlorogenic acid A is associated with the blockade of abnormal activation of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. In addition, it may also be related to the inhibition of the pentose phosphate pathway and purine/pyrimidine metabolism, as well as the induction of ferroptosis, etc.

KEYWORDS isochlorogenic acid A; hepatocellular carcinoma; PI3K/Akt/mTOR signaling pathway; metabolic reprogramming; metabolomics; transcriptomics

肝癌是全球范围内发病率和致死率均位居前列的恶性肿瘤,其治疗(尤其是晚期患者)面临靶向药物耐药与毒副作用等严峻挑战^[1-2]。天然产物因其多样的化学结构和生物活性,已成为抗肿瘤药物研发的重要来源^[3]。异绿原酸 A 是一种天然的酚类化合物,具有抗氧化、抗炎、抗病毒等生物活性,在结直肠癌等模型中已展现出明确的抗肿瘤活性^[4],且在肝癌相关研究中表现出优于绿原酸的细胞生长抑制能力^[5],但其在抗肝癌中的具体分子机制,尤其是与关键信号通路的关联,尚缺乏系统阐释。

磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin, PI3K/Akt/mTOR)信号通路是调控细胞生长、增殖与代谢的核心通路,在约 50% 的肝癌患者中被发现异常激活,与肿瘤的发生、发展及不良预后密切相关^[6-8]。近年来研究表明,部分天然产物可通过干预该通路发挥抗肝癌作用^[9]。然而,异绿原酸 A 的抗肝癌效应是否与抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路有关,目前尚未见明确报道;且现有研究多停留在表型观察,难以深入揭示其复杂的分子调控网络。多组学技术(如转录组学、代谢组学)能够从基因表达和代谢重编程等多个维度系统性地解析药物对细胞生命活动的影响,突破传统单一分子靶点研究的局限。基于此,本研究基于多组学技术和 PI3K/Akt/mTOR 信号通路探讨了异绿原酸 A 抗肝癌的作用机制,以期阐明异绿原酸 A 的抗肝癌作用机制及肝癌的治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用仪器包括 Epoch 型酶标仪(美国 Agilent 公司)、DMIL LED 型倒置显微镜(德国 Leica 公司)、QuantStudio5 型实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、Amersham

Imagequant 800 型多功能凝胶成像系统(美国 Cytiva 公司)、Heal Force HF240 型 CO₂ 培养箱(力康生物医疗科技控股有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

异绿原酸 A 标准品(批号 A0025,纯度 $\geq 98\%$)购自成都曼斯特生物科技有限公司;RNA 快速提取试剂盒(批号 R001-100T)、反转录试剂盒(货号 SB-RT001-100T)、高效 RIPA 裂解液(货号 SB-BR040)、ECL 发光液(货号 SB-WB004)均购自上海圣尔生物科技有限公司;CCK-8 试剂盒(货号 C0038)、磷酸化 Akt1 (phosphorylated Akt1, p-Akt1) (Ser473) 兔单克隆抗体(货号 AF1546)、Akt1 兔单克隆抗体(货号 AF1777)、mTOR 兔单克隆抗体(货号 AF1648)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(H+L)二抗(货号 A0208)均购自上海碧云天生物技术股份有限公司;PI3K 抗体(货号 4249)、人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten, PTEN)抗体(货号 9559)均购自美国 Cell Signaling Technology 公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)兔单克隆抗体(货号 AB0037)购自上海埃必威生物技术有限公司。

1.3 实验细胞

人肝癌 HepG2 细胞株(货号 CL0103)购自武汉普诺赛生命科技有限公司,并经短串联重复序列鉴定。

2 方法

2.1 细胞培养

HepG2 细胞培养于含 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素的 MEM 培养基中,置于 37 °C、5%CO₂ 细胞培养箱内培养。当细胞密度达到 80%~90% 时进行传代,传代时弃原培养基,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 1 次,加入 0.25% 胰酶,消化 2 min,待细胞变圆、间隙增大后,立即加入含血清的完全培养基终止消化,制成单细胞悬液,接种到

新培养瓶中冻存。细胞冻存时使用无血清冻存液,复苏时需快速置于37℃水浴锅融化,离心去除冻存液,然后混匀接种于培养瓶中。

2.2 异绿原酸A对HepG2细胞增殖的影响

取对数生长期的HepG2细胞,按 4×10^3 个/孔接种于96孔板中,过夜培养后弃原培养基,加入含不同质量浓度(0.1、0.125、0.2、0.25、0.4、0.5 mg/mL,浓度设置参考相关文献^[10])异绿原酸A的培养基作为实验组,另设空白组(不加药物和细胞,只加培养基)和对照组(不加药物,加细胞和培养基),每组设3个复孔。分别培养24、36、48 h后,每孔加入100 μ L的CCK-8工作液,继续孵育30 min,用酶标仪测定其在450 nm波长处的光密度(optical density, OD)值,按下式计算细胞存活率:细胞存活率(%)=(实验组OD值-空白组OD值)/(对照组OD值-空白组OD值) $\times 100\%$ 。使用GraphPad Prism 9.4.1软件分析半数抑制浓度(half-maximal inhibitory concentration, IC_{50})。

2.3 异绿原酸A对HepG2细胞侵袭能力的影响

取对数生长期的HepG2细胞,按 5×10^5 个/孔接种于6孔板中,过夜贴壁后,分别加入0(对照组)、0.25、0.5 mg/mL(根据“2.2”项下实验结果设置,作为异绿原酸A低、高浓度组,下同)的异绿原酸A干预48 h,每个浓度设3个复孔。提前用Matrigel基质胶包被Transwell小室上室,于37℃条件下聚合1 h;随后将6孔板细胞消化并调整密度为 2×10^5 个/mL,取100 μ L细胞悬液加入上室,下室加入600 μ L含20%胎牛血清的培养基,置于CO₂培养箱中常规培养48 h。取出Transwell小室,用4%多聚甲醛固定25 min、0.1%结晶紫染色20 min后,使用倒置显微镜进行观察,每组随机选取5个视野进行细胞计数,按下式计算细胞侵袭率:细胞侵袭率(%)=实验组侵袭细胞数/对照组侵袭细胞数 $\times 100\%$ 。

2.4 异绿原酸A对HepG2细胞迁移能力的影响

取对数生长期的HepG2细胞,接种于6孔板中,贴壁长满后,用无菌200 μ L枪头垂直划3条平行线,以PBS洗涤去除脱落细胞,按“2.3”项下方法分组、加药,分别于干预0(划痕初始)、24、48 h时使用倒置显微镜进行观察并拍照,用Image J软件测量划痕面积,并按下式计算细胞迁移率:细胞迁移率(%)=(划痕初始面积-培养后划痕面积)/划痕初始面积 $\times 100\%$ 。

2.5 异绿原酸A对HepG2细胞中DEPTOR mRNA表达的影响

取对数生长期的HepG2细胞,接种于6孔板中,过夜贴壁后,按“2.3”项下方法分组、加药、干预后,弃培养基,用PBS洗2次,用RNA快速提取试剂盒提取总

RNA,反转录为cDNA,再进行PCR扩增。PCR反应体系包括SYBR Green qPCR Premix 10 μ L,正、反向引物各0.4 μ L,cDNA 2 μ L,ddH₂O 7.2 μ L。扩增程序如下:95℃预变性30 s;95℃变性10 s,60℃退火延伸30 s,共40个循环。以 β -肌动蛋白(β -actin)为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算含DEP结构域的mTOR相互作用蛋白(DEP domain-containing mTOR-interacting protein, DEPTOR) mRNA的表达量,结果以对照组为参照进行归一化处理。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计、合成。DEPTOR正向序列为5'-ACTGGCTGGTTCAGGA-AGGTGA-3',反向序列为5'-GCTGTCCACAAATGGG-TGCTTG-3',片段大小为119 bp; β -actin正向序列为5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3',反向序列为5'-CT-GGAAGGTGGACAGCGAGG-3',片段大小为205 bp。

2.6 异绿原酸A对HepG2细胞中PI3K/Akt/mTOR信号通路相关蛋白表达的影响

取对数生长期的HepG2细胞,接种于6孔板中,过夜贴壁后,按“2.3”项下方法分组、加药、干预后,弃培养基,用PBS洗2次,每孔加入200 μ L高效RIPA裂解液,置于冰上充分裂解后,于4℃下以14 000 r/min离心5 min,取上清液转移至1.5 mL离心管中,采用BCA法测定蛋白浓度,煮沸变性10 min,置于-80℃冰箱保存备用。取变性蛋白样本上样,经电泳分离后转膜,加入快速封闭液室温封闭30 min,加入p-Akt、Akt、mTOR、PI3K、PTEN、GAPDH抗体(稀释比例均为1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:10 000),于4℃下孵育过夜;次日洗涤后加入二抗(稀释比例为1:5 000),室温孵育1 h,洗涤后滴加ECL发光液进行显影。使用Image J软件分析条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的灰度值比值表示目的蛋白的表达量,以p-Akt与Akt的灰度值比值表示Akt蛋白磷酸化水平。

2.7 异绿原酸A干预HepG2细胞的生物信息学分析

HepG2细胞常规传代培养,按“2.3”项下方法分组、加药、干预后,弃培养基,用预冷的PBS洗涤细胞2次,加入0.25%胰蛋白酶消化2 min,随后离心5 min,弃上清液,将细胞沉淀经液氮速冻后转移至-80℃冰箱保存,后续用干冰运输至北京诺禾致源科技股份有限公司进行检测。采用液相色谱-串联质谱法进行代谢组学检测,分析细胞内代谢物谱,重点筛选并分析与氨基酸、核苷酸、糖及脂质代谢相关的差异代谢物。通过偏最小二乘判别分析进行分组判别、筛选差异代谢物,并结合京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析,明确差异代谢物及其富集的信号通路。采用RNA测序技术进行转录组学

检测,全面检测细胞全基因组转录水平的变化,筛选差异表达基因,随后对差异表达基因进行基因本体(gene ontology,GO)功能注释及KEGG通路富集分析。

2.8 统计学方法

采用GraphPad Prism 9.4.1软件对数据进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用Dunnett's T3检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 异绿原酸A对HepG2细胞增殖的影响

CCK-8试验结果(图1)显示,0.1~0.5 mg/mL的异绿原酸A干预24 h对HepG2细胞存活率无明显影响($P>0.05$);0.5 mg/mL的异绿原酸A干预36 h可显著降低HepG2细胞存活率($P<0.05$),其他浓度异绿原酸A干预36 h对HepG2细胞存活率无明显影响($P>0.05$);0.4、0.5 mg/mL的异绿原酸A干预48 h可显著降低HepG2细胞存活率($P<0.05$),其他浓度异绿原酸A干预48 h对HepG2细胞存活率无明显影响($P>0.05$)。经计算,异绿原酸A干预HepG2细胞48 h的 IC_{50} 为0.49 mg/mL,其中0.25、0.5 mg/mL异绿原酸A干预后的细胞存活率分别为 $(95.4 \pm 8.5)\%$ 和 $(45.9 \pm 7.4)\%$ 。基于上述结果,后续实验选取0.25、0.5 mg/mL作为异绿原酸A的低、高浓度,干预时间设定为48 h。

3.2 异绿原酸A对HepG2细胞侵袭能力的影响

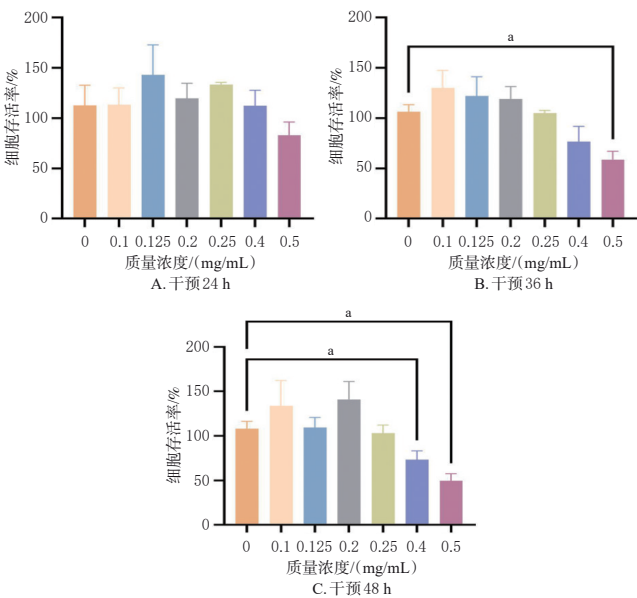
与对照组比较,干预48 h后,异绿原酸A低、高浓度组的细胞侵袭率均显著降低($P<0.05$)。结果见图2。

3.3 异绿原酸A对HepG2细胞迁移能力的影响

与对照组比较,异绿原酸A低、高浓度组干预24 h后的细胞迁移率无明显变化($P>0.05$),干预48 h后的细胞迁移率均显著降低($P<0.05$)。结果见图3。

3.4 异绿原酸A对HepG2细胞中PI3K/Akt/mTOR信号通路相关基因和蛋白表达的影响

与对照组比较,干预48 h后,异绿原酸A低、高浓度组的DEPTOR mRNA和PTEN蛋白表达量均显著升高,PI3K蛋白表达量均显著降低($P<0.05$);异绿原酸A低浓度组的Akt蛋白磷酸化水平显著升高,异绿原酸A高



a: $P<0.05$ 。
图1 不同质量浓度异绿原酸A对HepG2细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

浓度组的Akt蛋白磷酸化水平显著降低($P<0.05$);异绿原酸A低、高浓度组的mTOR蛋白表达量则无明显变化($P>0.05$)。结果见图4。

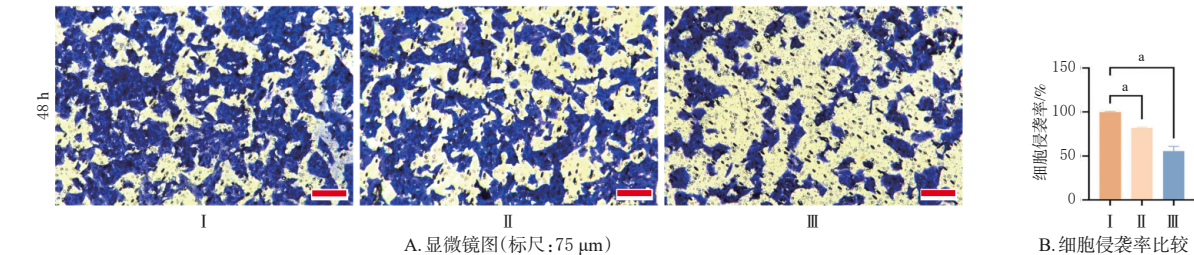
3.5 异绿原酸A对HepG2细胞的多组学分析

3.5.1 异绿原酸A对HepG2细胞差异代谢物的影响

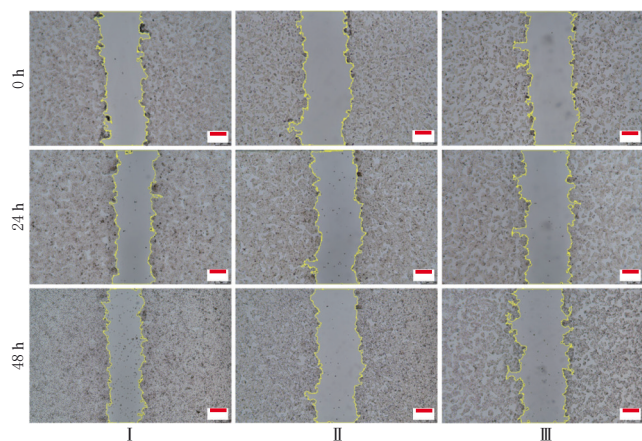
在正离子模式下共鉴定出差异代谢物155个,其中上调68个、下调87个;在负离子模式下共鉴定出差异代谢物149个,其中上调52个、下调97个。KEGG通路富集分析结果显示,正离子模式下的差异代谢物主要富集于半胱氨酸与甲硫氨酸代谢、嘧啶代谢、酪氨酸代谢、氨基酸生物合成及环磷酸鸟苷-蛋白激酶G信号通路等;负离子模式下的差异代谢物主要富集于赖氨酸降解、铁死亡、嘌呤代谢、磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)、脂肪酸降解及氨基酸代谢与生物合成等通路。

3.5.2 异绿原酸A对HepG2细胞差异表达基因的影响

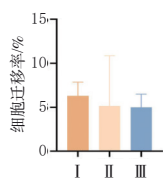
在基因水平共鉴定得到表达基因31 356个,筛选获得差异表达基因212个,其中上调基因162个、下调基因50个。GO功能富集分析结果显示,生物过程主要富集



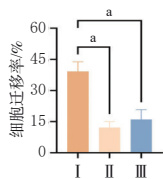
I:对照组;II:异绿原酸A低浓度组;III:异绿原酸A高浓度组;a: $P<0.05$ 。
图2 各组HepG2细胞侵袭能力比较($\bar{x} \pm s, n=3$)



A. 显微镜图(标尺:250 μm)



B. 干预24 h后细胞迁移率比较

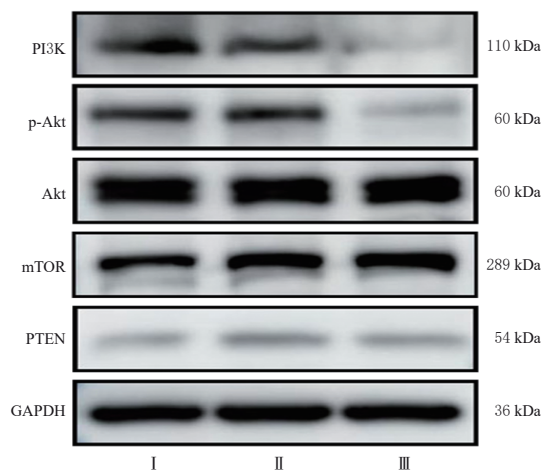


C. 干预48 h后细胞迁移率比较

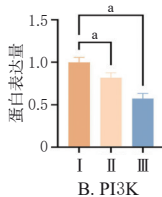
I : 对照组; II : 异绿原酸A低浓度组; III : 异绿原酸A高浓度组; a:

$P < 0.05$.

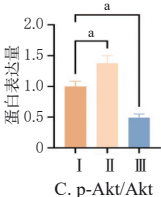
图3 各组HepG2细胞迁移能力比较($\bar{x} \pm s, n=3$)



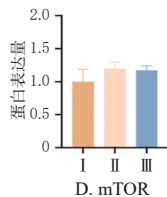
A. 蛋白电泳图



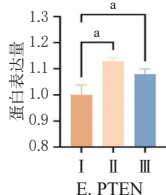
B. PI3K



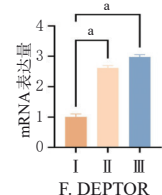
C. p-Akt/Akt



D. mTOR



E. PTEN



F. DEPTOR

I : 对照组; II : 异绿原酸A低浓度组; III : 异绿原酸A高浓度组; a:

$P < 0.05$.

图4 各组HepG2细胞中PI3K/Akt/mTOR信号通路相关基因和蛋白表达比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

于金属离子应激、表皮发育等过程;细胞组分主要集中在内质网腔、细胞外基质;分子功能则以硫化合物结合、类固醇羟化酶活性等为主。KEGG通路富集分析结果显示,差异表达基因主要富集在补体与凝血级联反应、氨基酸代谢、脂质代谢、铁死亡、cAMP信号通路、胰岛素信号通路、mTOR信号通路及PI3K/Akt信号通路等。

4 讨论

本研究整合代谢组学、转录组学与蛋白组学分析,并结合增殖、迁移、侵袭及分子生物学实验,系统探讨了异绿原酸A抗肝癌的潜在分子机制。结果发现,异绿原酸A可能通过抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路,同时协同诱导肿瘤细胞代谢重编程发挥抗肝癌作用。异常活化的PI3K/Akt/mTOR信号通路在肝癌发生发展中扮演关键角色,其与肿瘤细胞的增殖、存活及耐药性密切相关^[11]。Miller等^[12]研究发现,异绿原酸A可显著下调PI3K p110 α 蛋白表达,并抑制Akt在Ser473位点的磷酸化,同时上调该通路的负调控因子PTEN。值得注意的是,在Akt磷酸化被显著抑制的同时,mTOR总蛋白水平未发生明显变化,提示高浓度异绿原酸A的作用节点集中于mTOR上游。DEPTOR是mTOR复合物1/2的内源性抑制因子^[13],而本研究结果显示,高浓度异绿原酸A可显著上调DEPTOR mRNA表达,同时抑制PI3K/Akt信号通路(下调PI3K蛋白表达与Akt蛋白磷酸化),且对mTOR总蛋白表达无明显影响。上述结果表明,异绿原酸A发挥抗肝癌作用,可能与其抑制PI3K/Akt信号通路、上调DEPTOR表达相关;二者共同参与下调mTOR信号通路的功能活性,进而阻断PI3K/Akt/mTOR信号通路的异常激活。

多组学数据的整合分析进一步揭示了异绿原酸A抗肝癌的广谱代谢干扰特征。代谢重编程是肿瘤的标志性特征之一,涉及糖酵解、氧化磷酸化、谷氨酰胺分解及脂肪酸代谢等多个生物合成过程^[14]。代谢组学数据显示,经异绿原酸A干预后,PPP、嘌呤、嘧啶和脂肪酸代谢等关键生物合成与供能途径受到抑制,其中,PPP不仅是核苷酸合成前体的主要来源,还通过生成还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸维持细胞氧化还原平衡^[15];嘌呤与嘧啶代谢直接决定DNA/RNA合成的原料供给。本研究代谢组学数据提示,异绿原酸A从源头上限制了肿瘤细胞增殖的物质基础。此外,铁死亡通路的富集同样值得关注,结合转录组学中差异表达基因富集于氨基酸代谢与脂质代谢通路,提示异绿原酸A可能通过干扰氨基酸代谢稳态、调控脂质代谢紊乱、诱发脂质过氧化等方式介导肝癌细胞铁死亡,其过程或与谷氨酸-胱氨酸转运系统失衡存在潜在关联。转录组学GO功能分析中

属离子应激的生物过程富集,也间接支持了氧化还原失衡与铁死亡之间的关联。需要注意的是,尽管补体与凝血级联反应、氨基酸代谢、cAMP 信号通路、胰岛素信号通路等也在转录组学中被富集,但本次研究暂未对其进行深入探讨,后期可进一步研究。

综上所述,异绿原酸 A 抗肝癌的核心机制可能与抑制 PI3K/Akt 信号通路、上调 PTEN 和 DEPTOR 等负调控因子有关,其可从上游信号阻滞与内源性抑制增强两个层面下调 mTOR 信号通路功能活性,阻断 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的异常激活。同时,异绿原酸 A 可能广泛干预肝癌细胞代谢重编程,尤其以抑制 PPP 及嘌呤/嘧啶代谢为核心节点,并介导铁死亡通路的活化。这些多组学层面的发现与本研究细胞增殖、迁移、侵袭实验结果相呼应,共同构成了一个多层次的抗肝癌作用网络,体现了天然产物多靶点、多通路发挥药效的典型特征。然而,本研究结论主要基于体外细胞实验,缺乏体内动物模型的验证,同时,代谢重编程与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制之间的上下游因果关系尚不明确,未来需开展体内药效评价,并结合通路特异性激动剂/抑制剂进行回复实验,进一步揭示该作用网络的逻辑层次,为将异绿原酸 A 开发为新型抗肝癌药物提供更充分的实验依据。

参考文献

- [1] FOGLIA B, TURATO C, CANNITO S. Hepatocellular carcinoma: latest research in pathogenesis, detection and treatment[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(15): 12224-12226.
- [2] ZHOU H Y, SONG T Q. Conversion therapy and maintenance therapy for primary hepatocellular carcinoma[J]. *Biosci Trends*, 2021, 15(3): 155-160.
- [3] MYINT K Z, WU K, XIA Y M, et al. Polyphenols from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) leaves and their functional properties[J]. *J Food Sci*, 2020, 85(2): 240-248.
- [4] WANG W B, XU X W, ZHAO L, et al. 3, 5-diCQA suppresses colorectal cancer cell growth through ROS/AMPK/mTOR mediated mitochondrial dysfunction and ferroptosis[J]. *Cell Cycle*, 2023, 22(18): 1951-1968.
- [5] PANG Y L, LIN Y S, WANG X Q, et al. Inhibition of abnormally activated HIF-1 α -GLUT1/3-glycolysis pathway

enhances the sensitivity of hepatocellular carcinoma to 5-caffeoylquinic acid and its derivatives[J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 920: 174844.

- [6] HE Y, SUN M M, ZHANG G G, et al. Targeting PI3K/Akt signal transduction for cancer therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 425.
- [7] TIAN L Y, SMIT D J, JÜCKER M. The role of PI3K/Akt/mTOR signaling in hepatocellular carcinoma metabolism[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2652.
- [8] DIMRI M, SATYANARAYANA A. Molecular signaling pathways and therapeutic targets in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancers*, 2020, 12(2): 491-509.
- [9] 李瑞梅, 李雨晨, 杨芳, 等. 蟾毒灵通过抑制 PI3K/Akt 信号通路治疗肝细胞癌[J]. *中国药理学通报*, 2026, 42(3): 452-460.
- [10] LIU Y, FENG Y, LI Y X, et al. Chlorogenic acid decreases malignant characteristics of hepatocellular carcinoma cells by inhibiting DNMT1 expression[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 867.
- [11] RAHMANI F, ZIAEEMEHR A, SHAHIDSALES S, et al. Role of regulatory miRNAs of the PI3K/Akt/mTOR signaling in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(5): 4146-4152.
- [12] MILLER K A, DEGAN S, WANG Y Q, et al. PTEN-regulated PI3K-p110 and Akt isoform plasticity controls metastatic prostate cancer progression[J]. *Oncogene*, 2024, 43(1): 22-34.
- [13] XU J, SUN M H, WANG X, et al. NFIC activates DEPTOR and blocks mTOR signaling to inhibit glycolysis and immune escape in oral squamous cell carcinoma[J]. *Arch Oral Biol*, 2026, 181: 106442.
- [14] WANG S, FU J L, HAO H F, et al. Metabolic reprogramming by traditional Chinese medicine and its role in effective cancer therapy[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 170: 105728.
- [15] 杨蕙华, 陈大红, 刁文婧, 等. G6PD 调控 PI3K/Akt 信号通路诱导肝癌细胞索拉非尼耐药的机制研究[J]. *中国药房*, 2022, 33(19): 2338-2342.

(收稿日期: 2025-11-14 修回日期: 2026-05-12)

(编辑: 李 劲)