雷公藤红素通过FAK/MEK/ERK信号通路对肝癌细胞耐药性的影响Δ

罗晓明[1]*，曾贤敏[1]，蔡良韧[1]，郑　新[2]（1.湖北省第三人民医院肝胆胰外科，武汉　430033；2.武汉市第三医院普外科，武汉　430060）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）20-2477-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.20.06

摘　要　目的　探究雷公藤红素（CSL）对肝癌细胞耐药性的影响。**方法**　采用仑伐替尼（Len）构建耐药人肝癌细胞Huh7/Len，分为对照组，CSL低、中、高浓度组（1、2.5、5 μmol/L），CSL高浓度+Zn27[黏着斑激酶（FAK）激活剂]组（5 μmol/L CSL+2 nmol/L Zn27），每组设置6个复孔。检测细胞增殖（以吸光度计）和克隆能力、凋亡率、侵袭数、迁移数，以及细胞中活性氧（ROS）水平和磷酸化FAK（p-FAK）、磷酸化丝裂原活化蛋白激酶激酶（p-MEK）、磷酸化胞外信号调节激酶（p-ERK）、B细胞淋巴瘤2（Bcl-2）、Bcl-2相关X蛋白（Bax）、胱天蛋白酶3（caspase-3）蛋白表达。**结果**　与对照组比较，CSL低、中、高浓度组细胞的吸光度、克隆数、侵袭数、迁移数和p-FAK、p-MEK、p-ERK、Bcl-2蛋白相对表达量均显著降低，细胞凋亡率、ROS水平和Bax、caspase-3蛋白相对表达量均显著升高，且呈浓度依赖性（$P<0.05$）；与CSL高浓度组比较，CSL高浓度+Zn27组细胞中上述指标变化均显著逆转（$P<0.05$）。**结论**　CSL能增强氧化应激，促进细胞凋亡，抑制肝癌细胞恶性进展和化疗耐药性，其机制可能与抑制FAK/MEK/ERK信号通路有关。

关键词　雷公藤红素；肝癌；FAK/MEK/ERK信号通路；恶性进展；耐药性

Effects of celastrol on drug resistance of liver cancer cells through FAK/MEK/ERK signaling pathway

LUO Xiaoming[1], ZENG Xianmin[1], CAI Liangren[1], ZHENG Xin[2] (1. Dept. of Hepatobiliary Pancreatic Surgery, Hubei Third People's Hospital, Wuhan 430033, China; 2. Dept. of General Surgery, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430060, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effects of celastrol (CSL) on drug resistance of liver cancer cells. **METHODS** Human liver cancer lenvatinib (Len)-resistant cells Huh7/Len were constructed and divided into control group, CSL low-, medium- and high-concentration groups (1, 2.5, 5 μmol/L), and CSL high-concentration+Zn27 [focal adhesion kinase (FAK) inhibitor] group (5 μmol/L CSL+2 nmol/L Zn27), with 6 holes in each group. The proliferation (by absorbance) and cloning ability, apoptotic rate, the number of invasion cells and migration cells, the level of reactive oxygen species (ROS) as well as the protein expressions of phosphorylated FAK (p-FAK), phosphorylated mitogen-activated protein kinase kinase (p-MEK), phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (p-ERK), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax) and caspase-3 were detected. **RESULTS** Compared with control group, cell absorbance, clone count, invasion count and migration count , and the protein expressions of p-FAK, p-MEK, p-ERK and Bcl-2 were significantly reduced in the CSL low- , medium- , high-concentration groups; the apoptosis rate, ROS level, and protein expressions of Bax and caspase-3 were significantly increased, in a concentration-dependent manner ($P<0.05$). Compared with CSL high-concentration group, the changes of above indexes were all reversed significantly in CSL high-concentration+Zn27 group ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** CSL can enhance oxidative stress, promote cell apoptosis, inhibit malignant progression and chemotherapy resistance of liver cancer cells, and its mechanism may be related to the inhibition of the FAK/MEK/ERK signaling pathway.

KEYWORDS　celastrol; liver cancer; FAK/MEK/ERK kinase pathway; malignant progression; drug resistance

肝癌（liver cancer，LC）是常见的致命性肿瘤，发病率呈逐年增加趋势，患者确诊时常常已为晚期，导致其预后较差，也仅有部分早期患者可进行手术切除治疗，且有一定的术后并发症发生风险。化疗为临床治疗LC的常用方法，但耐药性明显[1]。因此，急需寻找合适的治疗方案并探索其作用机制，以应对LC的进展和耐药性。

雷公藤红素（celastrol，CSL）是一种萜类物质，具有抗炎、治疗肥胖等作用，能通过诱导LC、前列腺癌等多种肿瘤细胞生成活性氧（reactive oxygen species，ROS）来抑制肿瘤生长，发挥抗肿瘤的作用[2]。既往研究报道，黏着斑激酶（focal adhesion kinase，FAK）在多种肿瘤细胞系中呈过表达，可通过控制肿瘤细胞黏附和迁移来促

Δ**基金项目**　湖北省中医药管理局中医药科研项目（No.ZY2023-F061）

＊**第一作者**　副主任医师。研究方向：肝胆胰系统疾病。E-mail：hkhf08@163.com

进其生长[3]。丝裂原活化蛋白激酶激酶（mitogen-activated protein kinase kinase，MEK）/胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase，ERK）常介导细胞表面到细胞核的信号传导，以调控基因表达、细胞周期过程和细胞凋亡，参与肿瘤恶性进程[4]。已有研究报道，FAK、MEK/ERK具有双重抑制协同作用，抑制其表达能有效抑制肿瘤细胞增殖，促进肿瘤细胞凋亡，发挥抗肿瘤和细胞毒性作用[5]。为此，本研究基于FAK/MEK/ERK信号通路考察了CSL对LC细胞耐药性的影响，以期为LC的治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括Apogee A50型流式细胞仪、FLUOstar OPTIMA酶标仪（广州进科驰安科技有限公司）；Corning®Axygen®凝胶成像系统（上海辅泽商贸有限公司）；Mini Spin型离心机（德国Eppendorf公司）；XPR204S/AC型电子天平[梅特勒-托利多国际贸易（上海）有限公司]；IX73型显微镜（日本Olympus公司）等。

1.2 主要药品与试剂

CSL（批号jcsj01830，纯度≥98%）、DMEM培养基（批号OD20230627）、仑伐替尼（lenvatinib，Len）（批号N77227，纯度≥99%）、MTT细胞增殖试剂盒（批号A78381）、BCA试剂盒（批号A80223）均购于上海机纯实业有限公司；FAK激活剂ZINC40099027（Zn27）（批号464101）购于武汉艾美捷科技有限公司；膜联蛋白V（Annexin V）-异硫氰酸荧光素（FITC）/碘化丙啶（PI）试剂盒（批号997103）购于江苏麦格生物科技有限公司；ROS试剂盒（批号20231226）购于上海晶抗生物工程有限公司；兔源磷酸化FAK（phosphorylated FAK，p-FAK）、B细胞淋巴瘤2（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）、Bcl-2相关X蛋白（Bcl-2 associated X protein，Bax）、磷酸化MEK（phosphorylated MEK，p-MEK）、磷酸化ERK（phosphorylated ERK，p-ERK）、胱天蛋白酶3（caspase-3）、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）抗体（批号分别为ab81298、ab194583、ab263897、ab4750、ab201015、ab13847、ab9485）和山羊抗兔IgG二抗（批号ab97080）均购于英国Abcam公司。

1.3 细胞

人LC细胞株Huh7（货号CL-0120）购于武汉益普生物科技有限公司。

2 方法

2.1 细胞培养

将解冻复苏后的Huh7细胞，用DMEM培养基于37 ℃、5%CO_2环境中常规培养，取对数生长期的Huh7细胞完成传代和后续实验。

2.2 耐药细胞株构建

将对数生长期的Huh7细胞，用含1.24 μmol/L Len的培养基进行培养，隔日更换一次含药培养基；待细胞贴壁稳定生长（约2～3周）后，用不加药的培养基培养3～5 d开始传代；然后逐渐增加Len浓度重复上述操作，每次增加0.4 μmol/L，增加22次，共培养120 d，最终得到在含10.4 μmol/L Len的培养基中稳定生长的耐药细胞株Huh7/Len[6]。

2.3 细胞分组与给药

将Huh7/Len细胞分为对照组，CSL低、中、高浓度组（1、2.5、5 μmol/L CSL）[7]，CSL高浓度+Zn27组（5 μmol/L CSL+2 nmol/L Zn27）[8]。每组设置6个复孔。

2.4 细胞增殖能力考察

取对数生长期的Huh7/Len细胞，按“2.3”项下方法分组，对照组细胞用完全培养液（下同）制成细胞悬液，其余各组细胞用含相应药液的培养液（下同）制成细胞悬液，以1×10^3个/孔接种至96孔板中，每孔200 μL，分别常规培养24、48、72 h。培养结束后每孔加入MTT溶液20 μL，继续培养4 h，弃上清液，加入二甲基亚砜150 μL，用酶标仪于490 nm波长处测定吸光度。吸光度越大，表示活细胞数量越多，提示细胞增殖越快。实验重复3次。

2.5 细胞克隆能力考察

收集“2.4”项下分组干预24 h的细胞，制成细胞悬液，以700个/孔接种至6孔板中，常规培养10 d，期间每隔3 d换一次培养液。克隆形成后（以集落细胞数超过50个作为有效克隆），用磷酸盐缓冲液洗涤，以4%聚甲醛和0.1%结晶紫固定染色，通过显微镜拍照并观察，统计各组细胞克隆数。

2.6 细胞凋亡率检测

收集“2.4”项下分组干预24 h的细胞，制成细胞悬液，以1×10^5个/孔接种至6孔板中，待细胞贴壁后，用胰酶消化并收集至离心管中，加入Binding Buffer溶液300 μL重悬，再加入Annexin V-FITC 5 μL避光染色15 min，加入PI 5 μL染色5 min，通过流式细胞仪测定细胞凋亡率：细胞凋亡率（%）＝右上象限[$(\text{Annexin V-FITC})^+/\text{PI}^+$]凋亡率+右下象限[$(\text{Annexin V-FITC})^+/\text{PI}^-$]凋亡率。实验重复3次

2.7 细胞侵袭能力考察

收集“2.4”项下分组干预24 h的细胞，制成细胞悬液，调整密度为1×10^5个/mL，取200 μL加入Transwell小室上室（2×10^4个/孔）；下室加入含10%胎牛血清的培养基750 μL；聚碳酸酯膜上室侧铺一层基质胶。常规培养24 h，收集穿膜细胞，洗涤后用4%聚甲醛固定30 min，再用0.1%结晶紫染色15 min，在显微镜下，随机选取5个视野观察穿膜细胞并通过Image J软件统计细胞侵袭数。

2.8 细胞迁移能力考察

实验方法同“2.7”项，但不包被基质胶，统计细胞迁移数。

2.9 细胞中ROS水平检测

收集“2.4”项下分组干预24 h的细胞，制成细胞悬液，以1×10^{5}个/孔接种至6孔板中，待细胞贴壁后，用胰酶消化并收集培养液，按照试剂盒说明书操作，用酶标仪于450 nm波长处测定吸光度，通过与标准曲线比较，计算细胞中ROS水平。

2.10 细胞中FAK/MEK/ERK信号通路及凋亡相关蛋白检测

采用免疫印迹法检测。收集“2.4”项下分组干预24 h的细胞，制成细胞悬液，以1×10^{5}个/孔接种至6孔板中，待细胞贴壁后，用胰酶消化并收集细胞，用RIPA液裂解15 min，采用BCA法测定蛋白含量，加热变性蛋白。取变性后的蛋白样品适量，电泳、转膜后，用5%脱脂牛奶封闭2 h，加入p-FAK（稀释比例1∶1 000）、p-MEK（稀释比例1∶1 000）、p-ERK（稀释比例1∶1 000）、Bax（稀释比例1∶3 000）、Bcl-2（稀释比例1∶2 000）、caspase-3（稀释比例1∶500）、GAPDH（稀释比例1∶2 500）抗体，于4 ℃孵育过夜；洗膜，加入二抗（稀释比例1∶5 000），室温孵育1 h；用ECL液可视化后，使用凝胶系统成像，通过Image J软件分析，以目的蛋白与内参（GAPDH）的条带灰度值比值计算目的蛋白的相对表达量。

2.11 统计学方法

采用SPSS 26.00软件进行分析。数据用$\bar{x}\pm s$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SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 CSL对细胞增殖、克隆能力及凋亡率的影响

与对照组比较，CSL低、中、高浓度组细胞培养24、48、72 h的吸光度和培养10 d的克隆数均显著降低，细胞凋亡率均显著升高（$P<0.05$），且呈浓度依赖性（$P<0.05$）；与CSL高浓度组比较，CSL高浓度+Zn27组细胞培养24、48、72 h的吸光度和培养10 d的克隆数均显著升高，细胞凋亡率显著降低（$P<0.05$）。结果见表1、图1、图2。

表1 各组细胞增殖、克隆能力及凋亡率比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	增殖实验吸光度			细胞克隆数/个	细胞凋亡率/%
	24 h	48 h	72 h		
对照组	1.12±0.10	1.19±0.13	1.25±0.14	124.11±5.43	3.71±0.90
CSL低浓度组	0.85±0.05^a	0.91±0.06^a	0.96±0.06^a	100.02±4.75^a	27.22±1.05^a
CSL中浓度组	0.57±0.04^{ab}	0.60±0.04^{ab}	0.63±0.05^{ab}	81.37±3.26^{ab}	40.63±1.19^{ab}
CSL高浓度组	0.22±0.02^{abc}	0.24±0.02^{abc}	0.27±0.02^{abc}	47.79±2.32^{abc}	55.75±1.53^{abc}
CSL高浓度+Zn27组	0.89±0.07^d	0.93±0.08^d	0.99±0.09^d	107.46±5.01^d	26.14±1.06^d

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与CSL低浓度组比较，$P<0.05$；c：与CSL中浓度组比较，$P<0.05$；d：与CSL高浓度组比较，$P<0.05$。

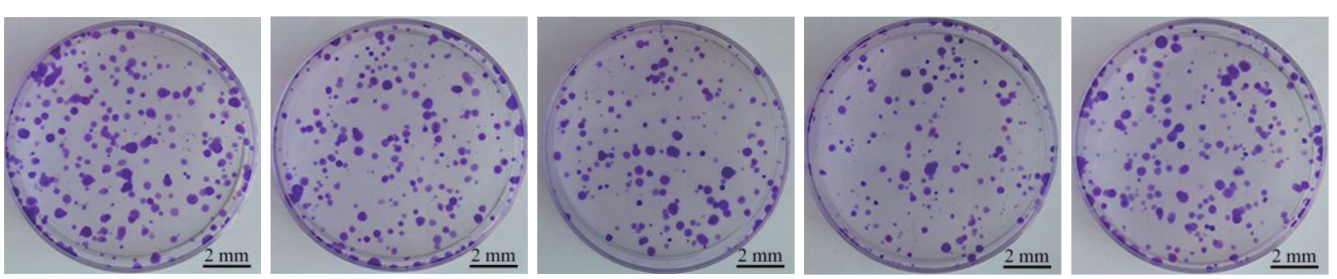
3.2 CSL对细胞侵袭、迁移能力的影响

与对照组比较，CSL低、中、高浓度组细胞的侵袭数和迁移数均显著降低（$P<0.05$），且呈浓度依赖性（$P<0.05$）；与CSL高浓度组比较，CSL高浓度+Zn27组细胞的侵袭数和迁移数均显著增加（$P<0.05$）。结果见表2、图3。

表2 各组细胞侵袭、迁移能力和ROS水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

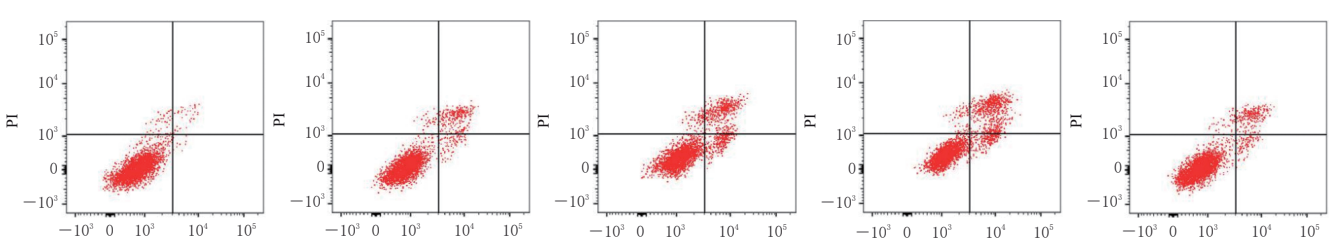
组别	细胞侵袭数/个	细胞迁移数/个	ROS/(pg/mL)
对照组	112.35±7.73	138.72±7.95	14.15±1.53
CSL低浓度组	81.14±6.52^a	105.91±6.43^a	25.13±1.65^a
CSL中浓度组	56.02±4.83^{ab}	74.68±4.51^{ab}	35.62±1.72^{ab}
CSL高浓度组	33.41±3.17^{abc}	50.44±3.22^{abc}	44.07±1.86^{abc}
CSL高浓度+Zn27组	79.17±6.45^d	109.85±6.10^d	25.69±1.69^d

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与CSL低浓度组比较，$P<0.05$；c：与CSL中浓度组比较，$P<0.05$；d：与CSL高浓度组比较，$P<0.05$。



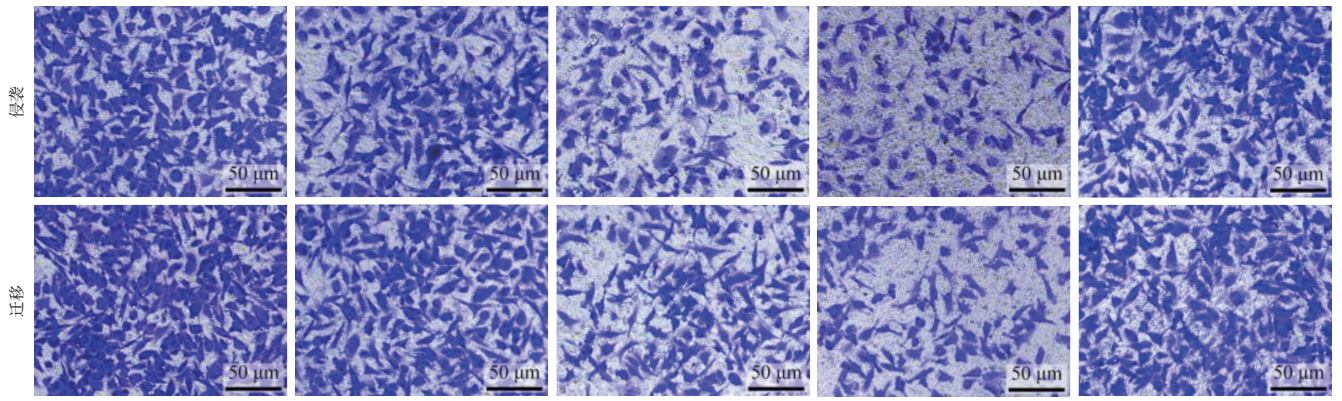
A. 对照组　B. CSL低浓度组　C. CSL中浓度组　D. CSL高浓度组　E. CSL高浓度+Zn27组

图1 各组Huh7/Len细胞克隆情况



A. 对照组　B. CSL低浓度组　C. CSL中浓度组　D. CSL高浓度组　E. CSL高浓度+Zn27组

图2 各组Huh7/Len细胞凋亡情况



A. 对照组　B. CSL低浓度组　C. CSL中浓度组　D. CSL高浓度组　E. CSL高浓度+Zn27组

图3　各组Huh7/Len细胞侵袭和迁移的显微镜图

3.3　CSL对细胞中ROS水平的影响

与对照组比较，CSL低、中、高浓度组细胞中ROS水平均显著升高（$P<0.05$），且呈浓度依赖性（$P<0.05$）；与CSL高浓度组比较，CSL高浓度+Zn27组细胞中ROS水平显著降低（$P<0.05$）。结果见表2。

3.4　CSL对细胞中FAK/MEK/ERK信号通路和凋亡相关蛋白表达的影响

与对照组比较，CSL低、中、高浓度组细胞中p-FAK、p-MEK、p-ERK、Bcl-2蛋白相对表达量均显著降低，Bax、caspase-3蛋白相对表达量均显著升高（$P<0.05$），且呈浓度依赖性（$P<0.05$）；与CSL高浓度组比较，CSL高浓度+Zn27组细胞中p-FAK、p-MEK、p-ERK、Bcl-2蛋白相对表达量均显著升高，Bax、caspase-3蛋白相对表达量均显著降低（$P<0.05$）。结果见表3、图4。

表3　各组细胞中FAK/MEK/ERK信号通路和凋亡相关蛋白相对表达量比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

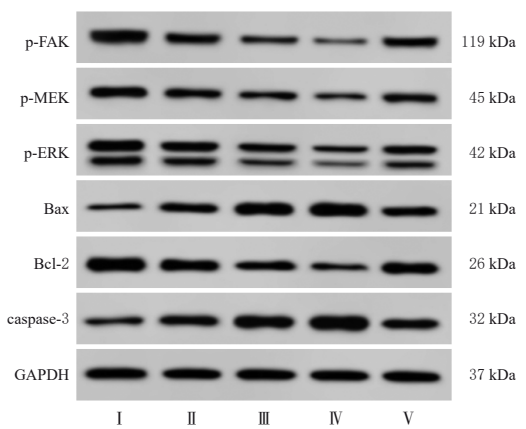
组别	p-FAK	p-MEK	p-ERK	Bax	Bcl-2	caspase-3
对照组	1.89±0.06	1.43±0.04	1.59±0.05	0.51±0.02	1.88±0.06	0.55±0.02
CSL低浓度组	1.56±0.05[a]	1.11±0.03[a]	1.25±0.04[a]	0.86±0.03[a]	1.41±0.04[a]	0.90±0.04[a]
CSL中浓度组	1.01±0.03[ab]	0.76±0.03[ab]	0.88±0.03[ab]	1.34±0.04[ab]	0.82±0.03[ab]	1.37±0.06[ab]
CSL高浓度组	0.53±0.02[abc]	0.40±0.02[abc]	0.53±0.02[abc]	1.91±0.06[abc]	0.33±0.02[abc]	1.93±0.07[abc]
CSL高浓度+Zn27组	1.55±0.05[d]	1.13±0.04[d]	1.27±0.04[d]	0.88±0.03[d]	1.45±0.04[d]	0.86±0.03[d]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与CSL低浓度组比较，$P<0.05$；c：与CSL中浓度组比较，$P<0.05$；d：与CSL高浓度组比较，$P<0.05$。

4　讨论

LC的发病隐匿，通常确诊较晚，患者的平均5年生存率较低，目前尚无根治性方案，临床上常采用索拉非尼和Len等用于LC的一线治疗。尽管上述一线治疗取得了很大进展，但LC患者的治疗手段和结局仍然有限[9]。因此，探索LC的发病机制，寻找有效治疗LC的方案是目前研究的重点。

已有研究发现，CSL可以增加ROS水平，介导氧化应激，诱导活化的肝星状细胞中的铁死亡，在多种肝脏疾病中展现出有效的抗纤维化和抗炎活性，保肝作用明显，能有效预防LC、肝炎等肝脏疾病[10]。CSL还能调控LC细胞自噬，诱导caspase依赖性细胞凋亡，降低LC细胞活力，从而发挥抗LC作用[11]。Xu等[12]研究报道，CSL能有效抑制LC细胞的形成和侵袭，被认为有希望成为一种抗LC的主流候选药物。本研究结果也进一步证实了该结论。本研究采用Len构建耐药LC细胞Huh7/Len，考察CSL对Huh7/Len细胞耐药性的影响，结果显示，CSL处理后Huh7/Len细胞的吸光度、克隆数、侵袭数和迁移数均显著降低，细胞凋亡率和细胞中ROS水平均显著升高，这说明CSL可提高耐药LC细胞Huh7/Len的化疗敏感性，抑制其生存和迁移，促进细胞凋亡，从而抑制LC的恶性进展。推测其原因可能是CSL通过介导ROS生成和氧化应激反应，从而加速细胞凋亡[10]。



Ⅰ：对照组；Ⅱ：CSL低浓度组；Ⅲ：CSL中浓度组；Ⅳ：CSL高浓度组；Ⅴ：CSL高浓度+Zn27组。

图4　各组细胞中FAK/MEK/ERK信号通路和凋亡相关蛋白表达的电泳图

FAK常在肿瘤中过表达，能参与调控黏附信号传导，引起细胞迁移，还能帮助细胞在应激下存活，可介导多种肿瘤细胞功能[13]。MEK是一种双特异性蛋白激酶，ERK是一种脯氨酸导向的蛋白激酶，二者均具有高度序列保守性和功能相似性，是细胞增殖、存活和细胞周期进程的中枢调节分子；MEK能催化ERK磷酸化，响应多种胞外信号，并激活多种转录因子，从而引发肿瘤[14]。既往报道，调控FAK、MEK/ERK等信号通路在肿瘤进展中发挥重要作用，这主要是通过调控肿瘤细胞的扩散和

转移来实现[15]。但FAK/MEK/ERK信号通路在LC中的作用还有待进一步研究。本研究结果显示，CSL处理后Huh7/Len细胞中p-FAK、p-MEK、p-ERK、Bcl-2蛋白相对表达量均显著降低，Bax、caspase-3蛋白相对表达量均显著升高，这提示CSL可能通过抑制FAK/MEK/ERK信号通路，促进凋亡相关因子caspase-3、Bax介导的细胞凋亡，从而抑制LC的进展。此外，本研究还发现，与CSL高浓度组比较，FAK激活剂Zn27联合高浓度CSL处理后细胞中p-FAK、p-MEK、p-ERK、Bcl-2蛋白相对表达量均显著升高，细胞凋亡率、ROS水平以及Bax、caspase-3蛋白相对表达量均显著降低，可见Zn27可逆转CSL的抗LC作用，这进一步说明CSL通过抑制FAK/MEK/ERK信号通路来提高化疗耐药性，抑制细胞存活和扩散，加速细胞凋亡。

综上所述，CSL能增强氧化应激，促进细胞凋亡，抑制LC细胞恶性进展和化疗耐药性，其机制可能与抑制FAK/MEK/ERK信号通路有关。上述结论可能为LC发展的潜在机制提供新的见解，有利于临床推广应用。但本研究未探讨激活剂对其的干扰，且缺乏体内实验验证，后续将进一步研究以确认结论。

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] XU H, ZHAO H F, DING C Y, et al. Celastrol suppresses colorectal cancer via covalent targeting peroxiredoxin 1 [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 51.

[3] PANG X J, LIU X J, LIU Y, et al. Drug discovery targeting focal adhesion kinase (FAK) as a promising cancer therapy[J]. Molecules, 2021, 26(14): 4250.

[4] LI Q F, LI Z H, LUO T, et al. Targeting the PI3K/Akt/mTOR and RAF/MEK/ERK pathways for cancer therapy [J]. Mol Biomed, 2022, 3(1): 47.

[5] PARADIS J S, ACOSTA M, SADDAWI-KONEFKA R, et al. Synthetic lethal screens reveal cotargeting FAK and MEK as a multimodal precision therapy for GNAQ-driven uveal melanoma[J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(11): 3190-3200.

[6] 董博文，李子一，李伟东，等. 双硫仑联合铜离子对乐伐替尼耐药肝癌细胞Huh7增殖及凋亡的影响[J]. 中国普外基础与临床杂志，2020，27(2)：168-172.
DONG B W, LI Z Y, LI W D, et al. Effects of disulfiram combined with copper ions on proliferation and apoptosis of lenvatinib resistance Huh7 cells[J]. Chin J Bases Clin Gen Surg, 2020, 27(2): 168-172.

[7] 孙懿，宋莹莹，张聪，等. 雷公藤红素激活AMPK信号通路抑制肝癌HepG2细胞增殖的作用研究[J]. 中国药师，2021，24(11)：1961-1966，1982.
SUN Y, SONG Y Y, ZHANG C, et al. Effects and mechanism of celastrol on the proliferation of hepatocellular carcinoma HepG2 cells by activating AMPK signal pathway [J]. China Pharm, 2021, 24(11): 1961-1966, 1982.

[8] RASHMI, MORE S K, WANG Q G, et al. ZINC40099027 activates human focal adhesion kinase by accelerating the enzymatic activity of the FAK kinase domain[J]. Pharmacol Res Perspect, 2021, 9(2): e00737.

[9] POPE E D 3rd, KIMBROUGH E O, VEMIREDDY L P, et al. Aberrant lipid metabolism as a therapeutic target in liver cancer[J]. Expert Opin Ther Targets, 2019, 23(6): 473-483.

[10] LUO P, LIU D D, ZHANG Q, et al. Celastrol induces ferroptosis in activated HSCs to ameliorate hepatic fibrosis via targeting peroxiredoxins and HO-1[J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(5): 2300-2314.

[11] SHEN B, CHEN H B, ZHOU H G, et al. Celastrol induces caspase-dependent apoptosis of hepatocellular carcinoma cells by suppression of mammalian target of rapamycin[J]. J Tradit Chin Med, 2021, 41(3): 381-389.

[12] XU J X, CHEN S L, YANG J M, et al. Hyaluronidase-trigger nanocarriers for targeted delivery of anti-liver cancer compound[J]. RSC Adv, 2023, 13(16): 11160-11170.

[13] DAWSON J C, SERRELS A, STUPACK D G, et al. Targeting FAK in anticancer combination therapies[J]. Nat Rev Cancer, 2021, 21(5): 313-324.

[14] BARBOSA R, ACEVEDO L A, MARMORSTEIN R. The MEK/ERK network as a therapeutic target in human cancer[J]. Mol Cancer Res, 2021, 19(3): 361-374.

[15] MEI D, ZHU Y, ZHANG L L, et al. The role of CTHRC1 in regulation of multiple signaling and tumor progression and metastasis[J]. Mediators Inflamm, 2020, 2020: 9578701.

（收稿日期：2024-04-30　修回日期：2024-09-14）
（编辑：邹丽娟）