



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2024.09.017
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2024.09.017
China Journal of General Surgery, 2024, 33(9):1499-1506.

· 基础研究 ·

槐耳菌质对人胆管癌细胞侵袭与迁移的影响及其作用机制

谭义炫¹, 王艳良¹, 张振胜¹, 张月馨², 王超竣³

(海南省儋州市人民医院 1. 肝胆外科 2. 肿瘤内科, 海南 儋州 571700; 3. 中国人民解放军联勤保障部队第九二八医院 血液肿瘤科, 海南海口 571100)

摘要

背景与目的: 胆管癌作为罕见的恶性肿瘤, 难以诊断, 往往在晚期才被发现, 只能选择姑息疗法, 但是常规的化疗药物对胆管癌治疗效果较差, 急需寻找新的治疗药物。本研究探讨槐耳菌质对人胆管癌细胞恶性生物学行为的影响, 及其与 TGF- β /Smad 通路的关系, 旨在为槐耳菌质治疗胆管癌提供理论依据。

方法: 用不同浓度槐耳菌质孵育人正常肝细胞 L-02 和人胆管癌细胞 HuCCT1 不同时间后, 检测细胞增殖情况, 并计算半数抑制浓度 (IC₅₀); 将 HuCCT1 细胞分为阴性对照组 (无干预)、阳性对照组 (15 mg/L 顺铂) 和不同浓度槐耳菌质干预组 (根据浓度与时间为预实验结果选择 1/5 IC₅₀、2/5 IC₅₀ 和 IC₅₀), 用划痕试验与 Transwell 实验检测细胞迁移与侵袭能力, 同时用 Western blot 检测 HuCCT1 细胞中 TGF- β /Smad 通路相关蛋白的表达。

结果: 只有较高浓度的槐耳菌质 (>312.5 mg/L) 对 L-02 细胞的增殖有明显抑制作用; 当浓度超过 5 mg/L 时, 槐耳菌质能明显抑制 HuCCT1 细胞增殖, 且呈浓度依赖性 (均 $P < 0.05$), IC₅₀ 分别为 24 h: 138.52 mg/L、48 h: 99.41 mg/L、72 h: 113.52 mg/L。与阴性对照组比较, 阳性对照组与三种浓度 (20、40、100 mg/L) 的槐耳菌质干预组 HuCCT1 细胞迁移距离、侵袭细胞数减少, TGF- β 1、Smad2、Smad3、Smad4、N-cadherin、Snail 和 Slug 表达降低, E-cadherin 表达增加 (均 $P < 0.05$); 与阳性对照组比较, 三个槐耳菌质干预组的上述变化更弱, 但呈明显的浓度依赖性 (均 $P < 0.05$)。

结论: 槐耳菌质可以抑制 HuCCT1 细胞恶性生物学行为, 其作用机制可能与抑制 TGF- β /Smad 通路活性有关。

关键词

胆管肿瘤; 细胞增殖; 肿瘤浸润; 槐耳菌质

中图分类号: R735.8

Effect of Huai'erjunzhi on invasion and migration of human cholangiocarcinoma cells and its action mechanism

TAN Yixuan¹, WANG Yanliang¹, ZHANG Zhensheng¹, ZHANG Yuexin², WANG Chaojun³

(1. Department of Hepatobiliary Surgery 2. Department of Medical Oncology, Danzhou People's Hospital, Danzhou, Hainan 571700, China; 3. Department of Hematological Oncology, the 928th Hospital of PLA's Joint Logistics Support Force, Haikou 571100, China)

Abstract

Background and Aims: Cholangiocarcinoma, a rare malignant tumor, is difficult to diagnose and often

基金项目: 海南省自然科学基金资助项目 (822RC876)。

收稿日期: 2024-06-20; **修订日期:** 2024-08-18。

作者简介: 谭义炫, 海南省儋州市人民医院主治医师, 主要从事胆管癌方面的研究。

通信作者: 王艳良, Email: 18147266667@163.com

detected at an advanced stage, limiting treatment options to palliative care. Conventional chemotherapy drugs have poor efficacy against cholangiocarcinoma, making the search for new treatments critical. This study was conducted to investigate the effects of Huai'erjunzhi on the malignant biological behavior of human cholangiocarcinoma cells and its relationship with the TGF- β /Smad pathway, aiming to provide a theoretical basis for the use of Huai'erjunzhi in cholangiocarcinoma treatment.

Methods: Human normal liver cells (L-02) and human cholangiocarcinoma cells (HuCCT1) were incubated with different concentrations of Huai'erjunzhi for various durations. Cell proliferation was assessed, and the half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) was calculated. HuCCT1 cells were divided into a negative control group (no intervention), a positive control group (15 mg/L cisplatin), and different Huai'erjunzhi intervention groups (1/5 IC_{50} , 2/5 IC_{50} , and IC_{50} based on preliminary experimental results). Scratch and Transwell assays were used to measure cell migration and invasion, while Western blot was employed to detect the expression of proteins related to the TGF- β /Smad pathway in HuCCT1 cells.

Results: Only high concentrations of Huai'erjunzhi (>312.5 mg/L) significantly inhibited the proliferation of L-02 cells. Huai'erjunzhi significantly inhibited the proliferation of HuCCT1 cells at concentrations above 5 mg/L in a concentration-dependent manner (all $P < 0.05$), with IC_{50} values of 138.52 mg/L at 24 h, 99.41 mg/L at 48 h, and 113.52 mg/L at 72 h. Compared with the negative control group, the positive control group and the three Huai'erjunzhi intervention groups (20, 40, and 100 mg/L) exhibited reduced migration distance, decreased invasive cell numbers, lower expression of TGF- β 1, Smad2, Smad3, Smad4, N-cadherin, Snail, and Slug, and increased expression of E-cadherin (all $P < 0.05$). Compared with the positive control group, these changes in the Huai'erjunzhi groups were less pronounced but showed a clear concentration-dependent relationship (all $P < 0.05$).

Conclusion: Huai'erjunzhi can potentially inhibit the malignant biological behavior of HuCCT1 cells by inhibiting the TGF- β /Smad pathway.

Key words

Bile Duct Neoplasms; Cell Proliferation; Neoplasm Invasiveness; Huai'erjunzhi

CLC number: R735.8

胆管癌是起源于胆道上皮的一种罕见的恶性肿瘤，由于胆管癌进展隐匿，难以诊断，往往在晚期才被发现，只能选择姑息疗法。大多数化疗药物如顺铂、奥沙利铂和吉西他滨可以抑制癌细胞增殖^[1-2]。然而，由于胆管癌通常具有强增殖、侵袭和早期转移等恶性生物学行为，常规的化疗药物对胆管癌治疗效果较差^[3]。因此，需要寻找新的治疗药物。研究^[4]发现，槐耳菌质的主要活性成分为多糖蛋白，可以抑制乳腺癌细胞生长，诱导乳腺癌细胞凋亡，但对正常细胞没有影响。通过文献检索发现，目前缺乏槐耳菌质对胆管癌作用的研究报道。上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 常发生在各种上皮细胞癌的进展过程中，作为肿瘤转移的早期事件，

是早期肿瘤向侵袭性恶性肿瘤转变的关键^[5]。转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 是最早被鉴定为EMT诱导因子，在正常肝内胆管上皮细胞中的表达较低，但在胆管炎症和梗阻性病变中，TGF- β 表达明显增加^[6-8]；同时，TGF- β 及其受体mRNA在胆管癌动物模型中被证实表达水平升高，TGF- β 在人胆管癌中也被发现表达水平升高^[9-10]。这些研究表明TGF- β 可有效诱导胆管癌细胞EMT，而TGF- β 介导的EMT主要依赖于TGF- β /Smad通路传导^[11]。因此，本研究检测槐耳菌质对人胆管癌细胞恶性生物学行为的影响，并探讨TGF- β /Smad通路在整个过程中的作用，为槐耳菌质治疗胆管癌提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

人正常肝细胞 L-02 和人胆管癌细胞 HuCCT1 (中科院上海细胞生物研究所); 顺铂 (美国 Sigma 公司); 槐耳菌质 (江苏启东盖天力药业有限公司, 纯度 >99%); RPMI-1640 完全培养基 (GIBCO); 四甲基噻唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 试剂盒 (美国 Amresco 公司); 细胞蛋白抽提试剂盒 (中国上海碧云天生物技术研究 所); TGF- β 1、磷酸化 -Smad2/3 (phosphorylated-Smad2/3, p-Smad2/3) Smad4、上皮型 E 钙黏蛋白 (E-cadherin)、神经性钙黏蛋白 (N-cadherin)、Snail、Slug、GAPDH 和 IgG 抗体 (美国 Santa Cruz 公司, 货号: A1927、A0429、A0356、A1248、A0325、A2741、A1427、A0208)。

1.2 MTT 法检测细胞增殖率

体外培养 L-02 细胞和 HuCCT1 细胞, 取对数生长期细胞进行实验, 铺板 (96 孔板, 5×10^4 个/孔), 用不同浓度槐耳菌质 (5 000、2 500、1 250、625、312.5、156.25、78.125、39.6、20、10、5 mg/L), 分别干预 24、48、72 h 后, 加入 MTT (20 μ L/孔), 继续培养 4 h, 加入二甲基亚砷 (200 μ L/孔), 用酶标仪测定吸光度 (optical density, OD) 值, 计算槐耳菌质对 L-02 细胞和 HuCCT1 细胞的半数抑制浓度 (half inhibitory concentration, IC_{50})。

1.3 细胞分组

实验分为阴性对照组、阳性对照组以及不同浓度槐耳菌质干预组。阴性对照组加入 RPMI-1640 完全培养基进行干预 HuCCT1 细胞, 阳性对照组给予终剂量为 15 mg/L 的顺铂进行干预 HuCCT1 细胞, 低、中、高浓度槐耳菌质干预组根据“1.2 MTT 法检测细胞增殖率”结果依次给予终剂量为 $1/5 IC_{50}$ 、 $2/5 IC_{50}$ 和 IC_{50} 的槐耳菌质干预 HuCCT1 细胞。

1.4 划痕试验法检测细胞迁移

将对数期 HuCCT1 细胞接种于 6 孔板中, 12 h 后用 200 μ L 枪头的尖端垂直划线, 用 RPMI-1640 完全培养基冲洗划痕, 按 1.3 法干预 HuCCT1 细胞, 用无血清 RPMI-1640 培养基处理 24 h 后用置于倒置

显微镜下, 拍下划痕伤口, 用 Image J 软件分析划痕宽度, 计算迁移距离 (迁移距离 = 0 h 时刻痕宽度 - 24 h 时刻痕宽度)。

1.5 Transwell 法检测细胞侵袭能力

用基质胶检测侵袭能力。将对数期 HuCCT1 细胞接种于 6 孔板中 24 孔 Transwell 小室中, 下室加入 RPMI-1640, 按 1.3 法干预 HuCCT1 细胞, 用无血清 RPMI-1640 培养基处理 24 h 后取出小室, 用甲醛固定, 用 0.1% 结晶紫染色 30 min, 冲洗干净后倒置显微镜下观察细胞, 拍照。计数紫色染色的穿膜细胞, 与对照组进行比较, 即细胞侵袭。

1.6 Western blot 法检测 HuCCT1 细胞 TGF- β /Smad 通路蛋白表达

将对数期 HuCCT1 细胞接种于 6 孔板中, 按 1.3 法干预 HuCCT1 细胞, 用无血清 RPMI-1640 培养基处理 24 h 后收获细胞, 离心弃上清, 用磷酸盐缓冲液洗涤 2 次, 用细胞蛋白抽提试剂 (100 μ L) 裂解 30 min, 离心取上清, 进行电泳 (20 μ g/孔)、转膜后进行抗体孵育 [TGF- β 1 (1:400)、p-Smad2/3 (1:200)、Smad4 (1:300)、E-cadherin (1:350)、N-cadherin (1:200)、Snail (1:400)、Slug (1:300) 和 GAPDH (1:500)], 过夜 (4 $^{\circ}$ C), 洗膜后用 IgG 抗体 (1:10 000) 在室温下孵育 30 min, 曝光, 采集图像, 进行分析 (以 GAPDH 作为内对照)。

1.7 统计学处理

用 SPSS 20.0 进行统计学分析, 试验结果采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析进行判断, 组间两两比较用 SNK- q 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度槐耳菌质对 L-02 细胞增殖的影响

当浓度低于 312.5 mg/L 时, L-02 细胞增殖率变化不明显 (均 $P > 0.05$)。槐耳菌质对 L-02 细胞的 IC_{50} 分别为 24 h: 976.52 mg/L、48 h: 857.65 mg/L、72 h: 886.59 mg/L (图 1)。

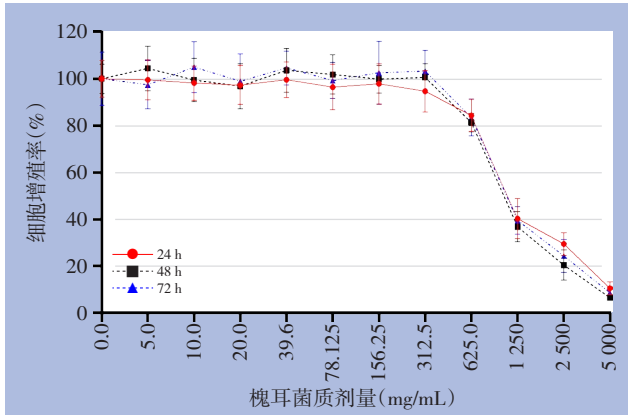


图 1 不同浓度槐耳菌质对 L-02 细胞增殖的影响

Figure 1 Effects of different concentrations of Huai'erjunzhi on the proliferation of L-02 cells

2.2 不同浓度槐耳菌质对 HuCCT1 细胞增殖的影响

当浓度超过 5 mg/L 时，槐耳菌质明显抑制 HuCCT1 细胞增殖，且呈浓度依赖性（均 $P < 0.05$ ）； IC_{50} 分别为 24 h：138.52 mg/L、48 h：99.41 mg/L、72 h：113.52 mg/L。48 h 时 IC_{50} 最小，故后续试验选 48 h 作为干预时间，100 mg/L 作为高浓度组的干预浓度，中、低浓度组的干预浓度依次为 40 mg/L 和 20 mg/L（图 2）。

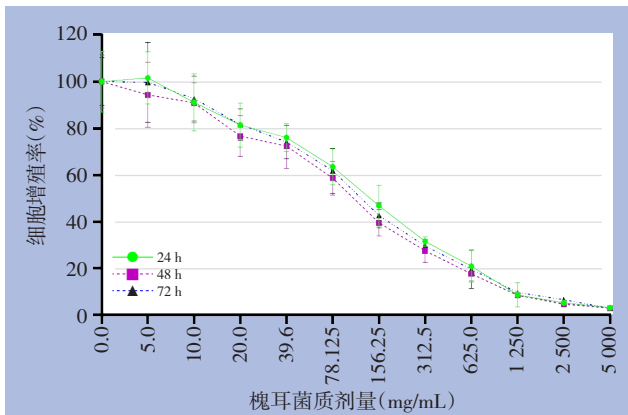


图 2 不同浓度槐耳菌质对 HuCCT1 细胞增殖的影响

Figure 2 Effects of different concentrations of Huai'erjunzhi on the proliferation of HuCCT1 cells

2.3 不同浓度槐耳菌质对 HuCCT1 细胞迁移和侵袭的影响

与阴性对照组比较，其余各组 HuCCT1 细胞迁移距离和侵袭细胞数降低（均 $P < 0.05$ ）；与阳性对照组比较，各槐耳菌质干预组 HuCCT1 细胞的上述变化更弱，但呈明显的浓度依赖性（均 $P < 0.05$ ）（图 3-4）。

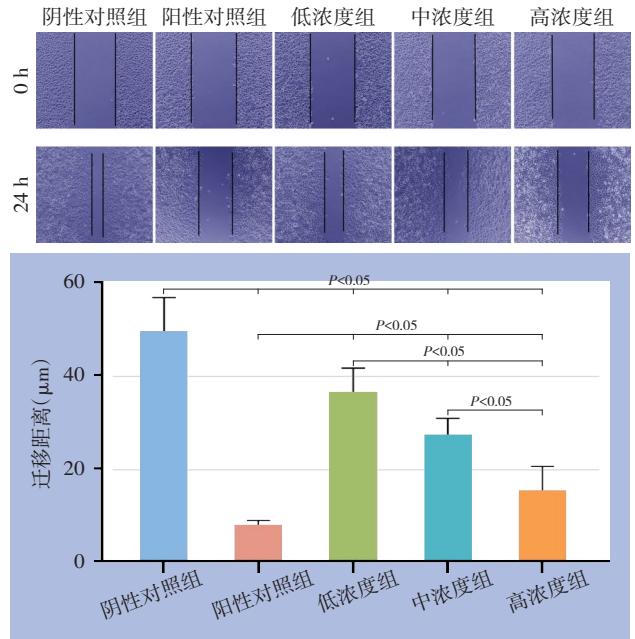


图 3 不同浓度槐耳菌质对 HuCCT1 细胞迁移的影响

Figure 3 Effects of different concentrations of Huai'erjunzhi on the migration of HuCCT1 cells

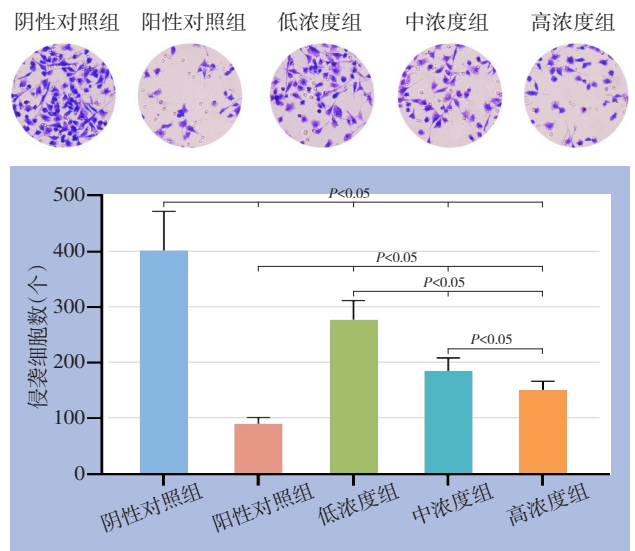


图 4 不同浓度槐耳菌质对 HuCCT1 细胞侵袭的影响

Figure 4 Effects of different concentrations of Huai'erjunzhi on the invasion of HuCCT1 cells

2.4 不同浓度槐耳菌质对 HuCCT1 细胞中 TGF-β₁、p-Smad2/3 和 Smad4 蛋白水平的影响

与阴性对照组比较，其余各组 HuCCT1 细胞中 TGF-β₁、p-Smad2/3 和 Smad4 蛋白水平降低（均 $P < 0.05$ ）；与阳性对照组比较，各槐耳菌质干预组 HuCCT1 细胞的上述变化更弱，但呈明显的浓度依赖性（均 $P < 0.05$ ）（图 5）。

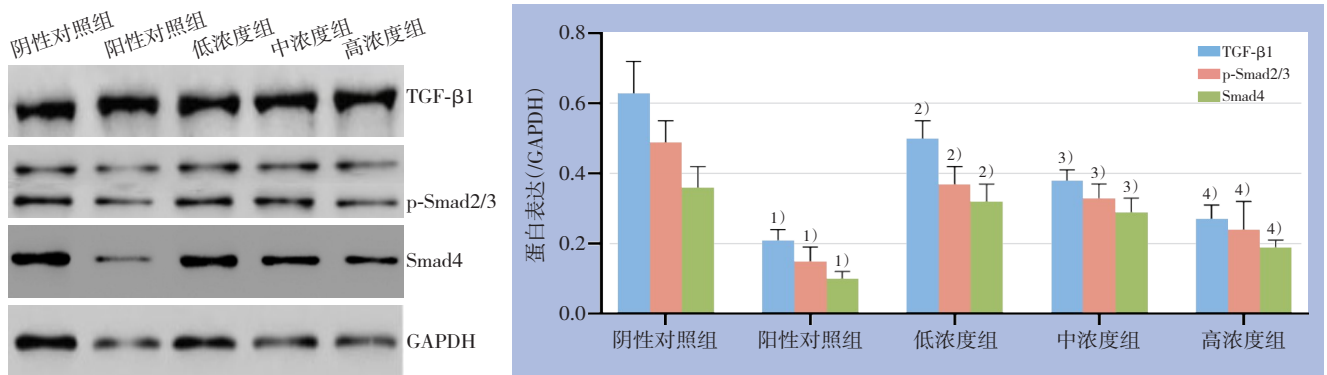


图5 不同浓度槐耳菌质对HuCCT1细胞中TGF-β1、p-Smad2/3和Smad4蛋白水平的影响 注: 1) 与阴性对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与阳性对照组比较, $P < 0.05$; 3) 与低浓度组比较, $P < 0.05$; 4) 与中浓度组比较, $P < 0.05$

Figure 5 Effects of different concentrations of Huai'erjunzhi on the protein levels of TGF-β1, p-Smad2/3, and Smad4 in HuCCT1 cells Note: 1) $P < 0.05$ vs. the negative control group; 2) $P < 0.05$ vs. the positive control group; 3) $P < 0.05$ vs. the low concentration group; 4) $P < 0.05$ vs. the medium concentration group

2.5 不同浓度槐耳菌质对HuCCT1细胞中E-cadherin、N-cadherin、Snail和Slug蛋白水平的影响

与阴性对照组比较, 其余各组HuCCT1细胞中

E-cadherin蛋白水平增加, N-cadherin、Snail和Slug蛋白水平降低(均 $P < 0.05$); 与阳性对照组比较, 各槐耳菌质干预组HuCCT1细胞的上述变化更弱, 但呈明显的浓度依赖性(均 $P < 0.05$)(图6)。

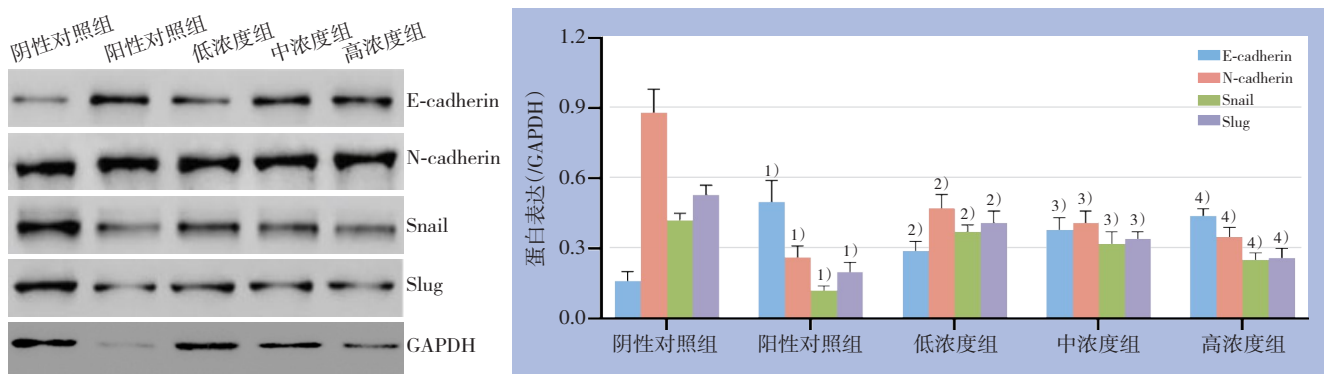


图6 不同浓度槐耳菌质对HuCCT1细胞中E-cadherin、N-cadherin、Snail和Slug蛋白水平的影响 注: 1) 与阴性对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与阳性对照组比较, $P < 0.05$; 3) 与低浓度组比较, $P < 0.05$; 4) 与中浓度组比较, $P < 0.05$

Figure 6 Effects of different concentrations of Huai'erjunzhi on the protein levels of E-cadherin, N-cadherin, Snail and Slug in HuCCT1 cells Note: 1) $P < 0.05$ vs. the negative control group; 2) $P < 0.05$ vs. the positive control group; 3) $P < 0.05$ vs. the low concentration group; 4) $P < 0.05$ vs. the medium concentration group

3 讨论

虽然姑息疗法如化疗、放疗、药物洗脱支架和光动力疗法等对胆管癌治疗有一定疗效, 但远端器官转移后的胆管癌治疗仍然是一个巨大的挑战。因此, 需要一种新的治疗方案来抑制胆管癌的增殖、侵袭、血管生成和迁移。研究^[12]发现, 真菌多糖具有较强的免疫增强功能, 在癌症治疗中具有广阔的前景。本研究探讨了槐耳菌质对HuCCT1细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。槐耳

菌质的主要优点是能抑制肿瘤细胞的恶性生物学行为, 对正常细胞无明显不良影响。槐耳菌质不仅对肿瘤细胞增殖有抑制作用, 而且还能抑制肿瘤细胞的侵袭和转移^[13-14]。槐耳菌质通过调节乳腺癌细胞的EMT, 来抑制乳腺癌细胞的侵袭和转移^[15]。本研究结果显示, 槐耳菌质对HuCCT1细胞的 IC_{50} 显著高于L-02细胞的 IC_{50} , 具有较强的细胞选择性。

有证据^[16]表明, EMT在肿瘤发生、癌症复发和转移中起着至关重要的作用。正确激活EMT程

序对身体发育至关重要；然而，不规则的EMT诱导可能会扰乱上皮稳态和组织完整性，导致疾病进程^[17]。EMT涉及深刻的表型变化，包括细胞-细胞黏附和细胞极性的丧失，与周围细胞和基质的接触减少，并赋予细胞迁移和侵袭能力^[18]。在EMT过程中，细胞失去上皮表型，上皮标志物E-cadherin表达减少，逐渐获得间充质表型，同时间充质细胞标志物如N-cadherin表达增加^[19]。作为肿瘤侵袭的驱动因素，EMT刺激细胞从原发器官部位扩散，通过血液和淋巴管迁移，向周围组织外渗，最终扩散到远处器官的肿瘤中^[20]。本研究结果显示，槐耳菌质能增加HuCC1细胞中E-cadherin蛋白水平，降低N-cadherin蛋白水平，发挥EMT抑制作用，细胞迁移和侵袭试验结果也证实了上述推断。虽然槐耳菌质对HuCC1细胞的作用强度不如传统化疗药顺铂，但考虑到槐耳菌质对正常肝细胞毒副作用较小，所以槐耳菌质作为胆管癌治疗候选药物，还是具有一定的优势。

EMT发生在多种病理条件下，并受到多种途径的调节。其中，TGF- β 被认为是最具特征的EMT起始因子^[21]。TGF- β 是一种多功能细胞因子，参与细胞增殖、黏附、迁移等多种生物过程。到目前为止，TGF- β 家族包括TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3，而TGF- β 1已被证明与EMT高度相关^[22-24]。当TGF- β 被激活时，TGF- β 1促进Smad2和Smad3的磷酸化，磷酸化的Smad2和Smad3与Smad4形成异聚物复合物^[25]。Smad2/3/4复合体在细胞核中的易位最终影响靶基因的表达，包括参与EMT过程的基因的表达^[26]。因此，干扰Smad2/3的激活可能会阻断TGF- β /Smad通路传导和随后的EMT。Snail和Slug是锌指因子，在上皮细胞系中过度表达^[27]。Snail通过E-box相互作用直接抑制E-cadherin，Slug增强了锌指增强子结合蛋白1（zinc finger enhancer binding protein 1, ZEB1），促进细胞侵袭和转移^[28]。TGF- β 1激活的Smad2/3/4复合体可以反激活Snail和Slug的表达，直接结合E-cadherin启动子中的E-box，抑制上皮肿瘤细胞中E-cadherin的转录^[29]。此外，Smad2/3/4作为E-cadherin的转录功能共抑制因子，促进TGF- β 1诱导的小鼠乳腺上皮细胞EMT^[30]。本研究结果也证实，槐耳菌质能降低HuCC1细胞中TGF- β 1、Smad2、Smad3和Smad4蛋白水平，起到TGF- β /Smad通路抑制作用，同时槐耳菌质能降低HuCC1细胞中Snail和Slug蛋白水平，将TGF- β /Smad

通路与EMT串联起来。

综上所述，槐耳菌质可以通过TGF- β /Smads通路介导的EMT抑制来发挥对HuCC1细胞恶性生物学行为的治疗作用，这可能是槐耳菌质在体外抑制HuCC1细胞恶性生物学行为的潜在作用机制，这些结果为胆管癌的靶向治疗提供了可靠的试验依据。然而，本研究仅基于体外研究，而且研究指标较为简单，对于槐耳菌质可以通过TGF- β /Smad通路介导的EMT抑制来发挥对HuCC1细胞恶性生物学行为的治疗作用的结论尚需要大量的研究进一步证实，笔者也将在后续的研究中继续跟进。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：谭义炫负责研究实施、论文撰写；谭义炫、王艳良负责采集数据、数据分析、统计学分析；张振胜、张月馨、王超竣负责研究指导、论文修改。

参考文献

- [1] 覃德龙, 陈家璐, 唐玥, 等. 欧洲肝脏研究协会及国际肝癌协会2023版《肝内胆管癌治疗临床实践指南》更新解读[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(8): 1136-1145. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.08.002.
Qin DL, Chen JL, Tang Y, et al. Interpretation of the updates in 2023 EASL-ILCA Clinical Practice Guidelines on the management of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. China Journal of General Surgery, 2023, 32(8): 1136-1145. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.08.002.
- [2] 韩磊, 崔平, 唐明霜, 等. 胆道系统肿瘤患者生存预测模型的构建及验证研究[J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40(11): 1461-1469. doi: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.11.022.
Han L, Cui P, Tang MS, et al. Prediction model for survival in patients with biliary tract cancer: a development and validation study[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2019, 40(11): 1461-1469. doi: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.11.022.
- [3] Dai Z, Liu H, Liao J, et al. N7-Methylguanosine tRNA modification enhances oncogenic mRNA translation and promotes intrahepatic cholangiocarcinoma progression[J]. Mol Cell, 2021, 81(16): 3339-3355. doi: 10.1016/j.molcel.2021.07.003.
- [4] 鲁明睿. 槐耳清膏治疗乳腺癌分子机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016.
Lu MQ. Study on molecular mechanism of huai'erqing ointment in treating breast cancer[D]. Wuhan: Hubei University of Chinese

- Medicine, 2016.
- [5] Zhang NJ, Zhang Y, Yin S, et al. Nonylphenol promoted epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer cells by upregulating the expression of regulator of cell cycle[J]. *Chem Res Toxicol*, 2022, 35(9):1533–1540. doi:10.1021/acs.chemrestox.2c00180.
- [6] Jie M, Zhang ZQ, Deng N, et al. 18 beta-Glycyrrhetic Acid Inhibits TGF-beta-Induced Epithelial-to-Mesenchymal Transition and Metastasis of Hepatocellular Carcinoma by Targeting STAT3[J]. *Am J Chin Med*, 2022, 50(1): 313–332. doi: 10.1142/S0192415X22500124.
- [7] 高登辉,王恒毅,王景钧,等. 外源性转化生长因子- β 1对急性梗阻性胆管炎肝损伤的干预作用[J]. *中华实验外科杂志*, 2014, 31(3):541–543. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2014.03.032.
- Gao DH, Wang HY, Wang JJ, et al. Effect of exogenous transforming growth factor- β 1 on the liver injury in acute obstructive cholangitis[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2014, 31(3): 541–543. doi: 10.3760/cma. j. issn. 1001-9030.2014.03.032.
- [8] 谢伟选,罗昆仑,方征,等. 转化生长因子 β 1、Survivin 和 Caspase-3 蛋白在肝内胆管结石合并胆管狭窄患者组织中的表达及意义[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2019, 25(6):452–456. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2019.06.013.
- Xie WX, Luo KL, Fang Z, et al. Expressions and significance of transforming growth factor β 1, Survivin and Caspase-3 in patients with intrahepatic bile duct stones and bile duct stenosis[J]. *Chinese Journal of Hepatobiliary Surgery*, 2019, 25(6): 452–456. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2019.06.013.
- [9] 谢伟选,柏杨,李福利,等. TGF- β 1、survivin 和 caspase-3 在肝内胆管结石相关性肝内胆管癌中的表达及临床意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 28(8): 967–976. doi: 10.7659/j. issn. 1005-6947.2019.08.009.
- Xie WX, Bai Y, Li FL, et al. Expressions of TGF- β 1, survivin and caspase-3 in hepatolithiasis-associated intrahepatic cholangiocarcinoma and their clinical significance[J]. *China Journal of General Surgery*, 2020, 28(8): 967–976. doi: 10.7659/j. issn.1005-6947.2019.08.009.
- [10] 张文明,边伟,吕海涛,等. 转化生长因子- β 1与其受体阻断剂作用于人胆管癌细胞株后对转化生长因子-Smad轴的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2018, 35(3): 438–441. doi: 10.3760/cma. j. issn.1001-9030.2018.03.015.
- Zhang WM, Bian W, Lü HT, et al. Effect of transforming growth factor- β 1 and transforming growth factor- β receptor blocker on the transforming growth factor-Smad axis in RBE cells[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2018, 35(3): 438–441. doi: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2018.03.015.
- [11] 张一宁,陈吕奥,吴亚敏,等. GALNT6通过TGF- β /Smad信号通路调控EMT促进乳腺癌转移[J]. *中国细胞生物学学报*, 2021, 43(4):759–769. doi:10.11844/cjcb.2021.04.0008.
- Zhang YN, Chen LA, Wu YM, et al. GALNT6 promoted breast cancer metastasis by regulating EMT via TGF- β /smad signaling pathway[J]. *China Industrial Economics*, 2021, 43(4):759–769. doi: 10.11844/cjcb.2021.04.0008.
- [12] 彭娟娟,李向敏,王涓,等. 食药两用真菌多糖对肿瘤免疫逃逸调节作用机制研究进展[J]. *微生物学报*, 2021, 61(9):2594–2606. doi: 10.13343/j.cnki.wsx.20200638.
- Peng JJ, Li XM, Wang J, et al. Research progress on regulating tumor immune escape mechanism of edible and medicinal fungal polysaccharides[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(9):2594–2606. doi:10.13343/j.cnki.wsx.20200638.
- [13] 鲁明睿,卢宏达,孔庆志. 槐耳治疗恶性肿瘤的研究进展[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2015, 21(12):1607–1609. doi:10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2015.12.049.
- Lu MQ, Lu HD, Kong QZ. Research progress of *Sophora japonica* Thunb in treating malignant tumor[J]. *China Industrial Economics*, 2015, 21(12): 1607–1609. doi: 10.19945/j. cnki. issn. 1006-3250.2015.12.049.
- [14] 董岩,韩雨杉,高平. 槐耳菌质干预TWIST介导乳腺癌紫杉醇化疗耐药蛋白及信号转导通路的机制研究[J]. *癌症进展*, 2019, 17(20):2384–2387. doi:10.11877/j.issn.1672-1535.2019.17.20.08.
- Dong Y, Han YS, Gao P. Study on the mechanism of Huaier intervention on TWIST-mediated paclitaxel resistant-related proteins in breast cancer and its signal transduction pathway[J]. *Oncology Progress*, 2019, 17(20): 2384–2387. doi: 10.11877/j. issn.1672-1535.2019.17.20.08.
- [15] 雷姗姗,王映,顾晓文,等. 槐耳颗粒在三阴性乳腺癌术后辅助治疗的临床研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(5):717–723. doi: 10.3978/j.issn.1005-6947.2016.05.016.
- Lei SS, Wang Y, Gu XW, et al. Clinical observation of Huaier Granule adjuvant therapy for triple negative breast cancer after mastectomy[J]. *China Journal of General Surgery*, 2016, 25(5):717–723. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.05.016.
- [16] Zhang Z, Wuethrich A, Wang J, et al. Dynamic monitoring of EMT in CTCs as an indicator of cancer metastasis[J]. *Anal Chem*, 2021, 93(50):16787–16795. doi:10.1021/acs.analchem.1c03167.
- [17] Sodeyama G, Koga T, Mori Y, et al. Detection of markers for proliferation, stem cell, and EMT in the gills of Pacific abalone *Haliotis discus Hannai*[J]. *Fish Sci*, 2023, 89(5): 605–612. doi: 10.1007/s12562-023-01701-w.
- [18] 师锐赞,何倚帆,牛亚楠,等. 上皮黏附分子通过诱导EMT促乳腺癌转移和耐药[J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(7):934–939. doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2021.07.010.
- Shi RZ, He YF, Niu YN, et al. Epithelial cell adhesion molecule

- promotes metastasis and multidrug resistance of breast cancer through induction of epithelial-mesenchymal transition[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2021, 37(7): 934-939. doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2021.07.010.
- [19] Guerra E, Trerotola M, Relli V, et al. Trop-2 induces ADAM10-mediated cleavage of E-cadherin and drives EMT-less metastasis in colon cancer[J]. Neoplasia, 2021, 23(9): 898-911. doi: 10.1016/j.neo.2021.07.002.
- [20] 黎哲昊, 卜歆, 封琳, 等. 肿瘤相关中性粒细胞诱导人粘液表皮样癌细胞上皮-间质转变和侵袭转移的功能及机制研究[J]. 实用口腔医学杂志, 2021, 37(1): 5-9. doi: 10.3969/j.issn.1001-3733.2021.01.001.
- Li ZH, Bu X, Feng L, et al. Functional and mechanistic study of tumor-associated neutrophils inducing epithelial-mesenchymal transformation, invasion and metastasis of human mucoepidermoid carcinoma cells[J]. Journal of Practical Stomatology, 2021, 37(1): 5-9. doi: 10.3969/j.issn.1001-3733.2021.01.001.
- [21] Li Y, Li L, Qin J, et al. OSR1 phosphorylates the Smad2/3 linker region and induces TGF- β 1 autocrine to promote EMT and metastasis in breast cancer[J]. Oncogene, 2021, 40(1): 68-84. doi: 10.1038/s41388-020-01499-2.
- [22] Zhu N, Zhang XJ, Zou H, et al. PTPL1 suppresses lung cancer cell migration via inhibiting TGF- β 1-induced activation of p38 MAPK and Smad 2/3 pathways and EMT[J]. Acta Pharmacol Sin, 2021, 42(8): 1280-1287. doi: 10.1038/s41401-020-00596-y.
- [23] Raghavan CT, Smuda M, Smith AJO, et al. AGEs in human lens capsule promote the TGF β 2-mediated EMT of lens epithelial cells: implications for age-associated fibrosis[J]. Aging Cell, 2016, 15(3): 465-476. doi: 10.1111/ace1.12450.
- [24] Su Q, Wang JJ, Ren JY, et al. Parkin deficiency promotes liver cancer metastasis by TMEFF1 transcription activation via TGF- β /Smad2/3 pathway[J]. Acta Pharmacol Sin, 2024, 45(7): 1520-1529. doi: 10.1038/s41401-024-01254-3.
- [25] Bai L, Zhang YP, Zheng CM, et al. Tanshinone IIA protects mouse testes from heat stress injury by inhibiting apoptosis and TGF β 1/Smad2/Smad3 signaling pathway[J]. Cell Stress Chaperones, 2023, 28(6): 749-759. doi: 10.1007/s12192-023-01367-4.
- [26] Jiang H, Li L, Li-Ling J, et al. Increased Tbx1 expression may play a role via TGF β -Smad2/3 signaling pathway in acute kidney injury induced by gentamicin[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(4): 1595-1605.
- [27] 马艳丽, 杨靖, 吕梦丽. KAI1, Snail, Slug, E-cadherin在鼻咽癌组织中的表达及其与患者预后的关系[J]. 实用癌症杂志, 2023, 38(4): 562-564. doi: 10.3969/j.issn.1001-5930.2023.04.010.
- Ma YL, Yang J, Lu ML. Expression of KAI1, Snail, Slug, E-cadherin in Nasopharyngeal Carcinoma and Its Relationship with Prognosis[J]. The Practical Journal of Cancer, 2023, 38(4): 562-564. doi: 10.3969/j.issn.1001-5930.2023.04.010.
- [28] 王硕, 刘相萍, 赵娟, 等. 盐诱导激酶2通过调控转化生长因子- β /上皮-间充质转化通路抑制三阴性乳腺癌迁移和侵袭的机制[J]. 中华实验外科杂志, 2023, 40(1): 47-50. doi: 10.3760/cma.j.cn421213-20220621-01199.
- Wang S, Liu XP, Zhao X, et al. Molecular mechanism of inhibitory effect of salt-induced kinase 2 on migration and invasion of triple-negative breast cancer by regulating the transforming growth factor- β /epithelial-mesenchymal transition pathway[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2023, 40(1): 47-50. doi: 10.3760/cma.j.cn421213-20220621-01199.
- [29] Ben Brahim C, Courageux C, Jolly A, et al. Proliferation genes repressed by TGF- β are downstream of slug/Snai2 in normal bronchial epithelial progenitors and are deregulated in COPD[J]. Stem Cell Rev Rep, 2021, 17(3): 703-718. doi: 10.1007/s12015-021-10123-z.
- [30] Hua W, Kostidis S, Mayboroda O, et al. Metabolic reprogramming of mammary epithelial cells during TGF- β -induced epithelial-to-mesenchymal transition[J]. Metabolites, 2021, 11(9): 626. doi: 10.3390/metabo11090626.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 谭义炫, 王艳良, 张振胜, 等. 槐耳菌质对人胆管癌细胞侵袭与迁移的影响及其作用机制[J]. 中国普通外科杂志, 2024, 33(9): 1499-1506. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2024.09.017

Cite this article as: Tan YX, Wang YL, Zhang ZS, et al. Effect of Hua'erjunzhi on invasion and migration of human cholangiocarcinoma cells and its action mechanism[J]. Chin J Gen Surg, 2024, 33(9): 1499-1506. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2024.09.017