



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目： 破壁灵芝孢子粉通过调控Nrf2 通路保护DEN/CCl₄诱导的小鼠肝癌模型
作者： 金海，万硕，刘倩，赵思宇，李婧，朱加兴，安家兴，金凤
网络首发日期： 2026-05-26
引用格式： 金海，万硕，刘倩，赵思宇，李婧，朱加兴，安家兴，金凤. 破壁灵芝孢子粉通过调控Nrf2 通路保护DEN/CCl₄诱导的小鼠肝癌模型[J/OL]. 安徽医科大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20260526.1130.004>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

破壁灵芝孢子粉通过调控 Nrf2 通路保护 DEN/CCl₄ 诱导的小鼠肝癌模型

金海¹, 万硕¹, 刘倩¹, 赵思宇¹, 李婧¹, 朱加兴¹, 安家兴¹, 金凤²

(¹遵义医科大学附属医院消化内科, 遵义 563000; ²遵义医科大学基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室, 遵义 563099)

作者简介：金海，男，高级实验师；

金凤，女，教授，博士生导师，通信作者，E-mail:jinfeng1115@zmu.edu.cn

摘要 目的 研究破壁灵芝孢子粉 (GLS) 对小鼠肝癌模型的治疗作用并探索其机制。**方法** 将 50 只 14 天龄 C57BL/6J 小鼠分为对照组、模型组及 GLS 低、中、高剂量 (0.25、0.5、1.0 g/kg) 组，每组 10 只，建立 DEN/CCl₄ 小鼠肝癌模型，第 8 周开始灌胃 GLS，每天 1 次，连续 14 周。末次给药结束后观察小鼠肝脏结节数量，酶联免疫吸附测定法检测小鼠血清甲胎蛋白 (AFP)；钼酸铵法检测小鼠血清、肝组织过氧化氢酶 (CAT) 含量；微板法检测小鼠血清、肝组织还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量；比色法检测小鼠血清、肝组织谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 含量；免疫组化法检测增殖细胞核抗原 (PCNA) 蛋白表达；实时荧光定量聚合酶链式反应检测核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)、血红素加氧-1 (Ho-1)、Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (Keap1)、醌氧化还原酶 1 (Nqo1) 和谷氨酸半胱氨酸连接酶催化亚基 (Gclc) mRNA 相对表达。**结果** 与对照组比较，模型组小鼠血清 AFP 含量升高 ($P<0.01$)，小鼠肝脏及血清 CAT、GSH、GSH-PX 含量下降 ($P<0.01$)，Keap1、Nqo1 mRNA 相对表达升高 ($P<0.01$)，Nrf2、Ho-1、Gclc mRNA 相对表达降低 ($P<0.01$)，PCNA 阳性表达率升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，给药组小鼠肝脏结节总数、血清 AFP 含量降低 ($P<0.01$)，小鼠肝脏及血清 CAT、GSH、GSH-PX 含量升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，Keap1、Nqo1 mRNA 表达降低 ($P<0.05$)，Nrf2、Ho-1、Gclc mRNA 表达升高 ($P<0.05$)，PCNA 阳性表达率降低 ($P<0.01$)。**结论** GLS 对 DEN/CCl₄ 诱导的小鼠肝癌模型具有显著保护作用，作用机制与调节小鼠肝脏氧化应激有关。

关键词 灵芝孢子粉；氧化应激；肝癌；活性氧；核因子 E2 相关因子 2；Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1

中图分类号 R735.7

文献标志码 A

**Wall-broken ganoderma lucidum spore powder protects against DEN/CCL₄-induced
hepatocellular carcinoma in mice by modulating the Nrf2 pathway**

Jin Hai¹, Wan Shuo¹, Liu Qian¹, Zhao Shiyu¹, Li Jing¹, Zhu Jiaying¹, An Jiaying¹, Jin Feng²

(¹Department of Gastroenterology, Digestive Disease Hospital, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000; ²Key Laboratory of Basic Pharmacology of the Ministry of Education of Zunyi Medical University and Joint Laboratory of International Cooperation of the Ministry of Education of Characteristic Ethnic Medicine, Zunyi Guizhou 563099)

Abstract Objective To investigate the therapeutic effect of wall-broken Ganoderma lucidum spore powder (GLS) on a mouse model of hepatocellular carcinoma and to explore its underlying mechanism. **Methods** Fifty 14-day-old C57BL/6J mice were divided into a control group, a model group and low, medium and high-dose GLS groups (0.25, 0.5, 1.0 g/kg), with 10 mice in each group. A DEN/CCL₄ mouse hepatocellular carcinoma model was established, and GLS was administered by gavage starting from the 8th week, once a day for 14 weeks. At the end of the final administration, the number of liver nodules was observed, and the serum alpha-fetoprotein (AFP) was detected using enzyme-linked immunosorbent assay. The content of catalase (CAT) in serum and liver tissue was determined by ammonium molybdate method. The content of reduced glutathione (GSH) in serum and liver tissue was measured by microplate assay. The content of glutathione peroxidase (GSH-PX) in serum and liver tissue was detected by colorimetric method. Immunohistochemistry (IHC-P) was employed to detect the protein expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction was utilized to detect the relative expression of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2), Kelch-like epichlorohydrin-associated protein 1 (Keap1), NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (Nqo1), heme oxygenase-1 (Ho-1) and glutamate cysteine ligase catalytic subunit (Gclc) mRNA. **Results** Compared with the control group, the content of serum AFP were significantly higher in the model group ($P < 0.01$), while the contents of CAT, GSH and GSH-PX in liver and serum were significantly lower in the model group ($P < 0.01$). The relative expression of *Keap1* and *Nqo1* mRNA was significantly higher ($P < 0.01$), the relative expression of *Nrf2*, *Ho-1*, *Gclc* mRNA relative expression was significantly lower ($P < 0.01$), and the positive expression rate of PCNA was significantly higher ($P < 0.01$). Compared with the model group, the total number of liver nodules and content of serum AFP in the administered group were significantly lower ($P < 0.01$), and the contents of CAT, GSH, and GSH-PX in the liver and serum of mice significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The expression of *Keap1* and *Nqo1* mRNA significantly decreased ($P < 0.05$). The expression of *Nrf2*, *Ho-1* and *Gclc* mRNA significantly increased ($P < 0.05$), and positive expression rate of PCNA significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** GLS has a significant

protective effect on DEN/CCL4 -induced mouse hepatocellular carcinoma model, and the mechanism of action is related to the regulation of oxidative stress in mouse liver.

Key words Ganoderma lucidum spore powder; Oxidative stress; Hepatocellular carcinoma; ROS; Nrf2; Keap1

Found programs National Natural Science Foundation of China (No. 82460466); Scientific and Technological Project of Guizhou Province (No. QIAN KE HE Basic-ZK[2024] General 323)

Corresponding author Jin Feng, E-mail: jinfeng1115@zmu.edu.cn

肝细胞癌（hepatocellular carcinoma, HCC）是最常见的原发性肝癌类型，也是全世界最致命的癌症之一。由于 HCC 起病隐匿，在首次诊断时，只有不到 30% 的 HCC 患者适合接受手术根治性治疗^[1]，晚期 HCC 患者的生存率仍然很低，因此，迫切需要寻找有效药物提高患者生存时间。基于天然产物的药物开发一直是抗肿瘤药物发现和研究的重点方向。灵芝在中国具有悠久的药用和食用历史，灵芝孢子粉(ganoderma lucidum spore, GLS)是灵芝的生殖细胞，其含有许多生物活性成分，包括三萜、多糖、核苷酸、甾醇、类固醇和其他生物活性成分^[2]。灵芝的抗肿瘤活性已在胃肠道癌症中得到验证^[3]。课题组既往研究^[4-6]显示，GLS 对急性镉中毒及肝癌模型小鼠均有保护作用。二乙基亚硝胺（diethylnitrosamine, DEN）联合 CCl₄ 诱导的小鼠肝癌模型是常用的动物模型^[7]，该研究将继续使用该模型，探究 GLS 对该小鼠肝癌模型的作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂与仪器

破壁 GLS（批号：070001，贵州吉仁堂制药有限公司）；DEN（货号：N0756，美国 Sigma 公司）；CCl₄（货号：C805329，上海麦克林生化科技股份有限公司）；药用橄榄油（货号：O108686，上海阿拉丁生化科技股份有限公司）；cDNA 合成试剂盒、染料法荧光定量 PCR 预混液、RNA 提取试剂盒（货号：AE311、AQ601、ET111-01-V2，北京全式金生物技术有限公司）；增殖细胞核抗原（proliferating cell nuclear antigen, PCNA）抗体、小鼠甲胎蛋白（alpha-fetoprotein, AFP）ELISA 试剂盒（货号：BM0104、EK1661，武汉博士德生物工程有限公司）；活性氧（reactive oxygen species, ROS）检测试剂盒（货号：S0033S，上海碧云天生物技术有限公司）；小鼠还原型谷胱甘肽（reduced glutathione, GSH）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase, GSH-PX）、

过氧化氢酶 (catalase ,CAT) 测定试剂盒 (货号: A006-2-1、A005-1-2、A007-1-1, 南京建成生物工程研究所); 核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor, Nrf2)、Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (Kelch-like epichlorohydrin-associated protein 1,Keap1)、醌氧化还原酶 1[NAD(P)H quinone oxidoreductase 1,Nqo1]、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1,HO-1) 及谷氨酰胺半胱氨酸连接酶催化亚基 (glutamate-cysteine ligase catalytic subunit,Gclc) PCR 引物由北京睿博兴科生物技术有限公司合成。倒置显微镜 (型号: IX35, 日本 Olympus 公司), 全波段酶标仪 (型号: MultiskanSky High, 美国 ThermoFisher 公司), Icycler IQ 实时荧光定量 PCR 仪 (型号: CFX Connect, 美国 Bio-Rad 公司), 切片机 (型号: REM-710, 日本 YAMATO 公司)、包埋机 (型号: HistoCore, 德国 Leica 公司), 高速冷冻离心机 (型号: 5804R, 德国 Eppendorf 公司)

1.2 实验动物

SPF 级 C57BL/6J 小鼠雌性 20 只, 雄性 10 只, 5 周龄, 购于斯贝福 (北京) 生物技术有限公司 (许可证号: SCXK (京) 2016-0002), 按 2:1 分笼饲养繁殖幼鼠用于实验。动物均饲养于遵义医科大学附属医院实验动物中心, 动物实验经遵义医科大学附属医院实验动物伦理委员会批准, 符合实验动物福利伦理原则(伦理审批号: zyfy-an-2023-0329)。

1.3 动物分组、造模与给药

待幼鼠出生后, 取出生 14 d 雄性幼鼠 50, 其中 10 只为对照组 (Control), 40 只腹腔注射 DEN(25 mg/kg)1 次。第 4 周将注射 DEN 小鼠随机分为模型组(Model)、GLS 低剂量组(L-GLS, 0.25g/kg)、GLS 中剂量组 (M-GLS, 0.5g/kg)、GLS 高剂量组 (H-GLS, 1.0 g/kg), 每组 10 只。第 8 周开始灌胃给予 CCl₄, (CCl₄:橄榄油=1: 9, 5 mL/kg), 每周 2 次。同时, 药物组灌胃 GLS, 每天 1 次, 正常对照给与等量的 0.9%氯化钠溶液, 连续给药 14 周^[6]。

1.4 一般情况及肝脏形态学

末次给药结束, 各组小鼠禁食 12 h, 使用戊巴比妥钠麻醉小鼠, 采集小鼠眼眶血, 收集血清。小鼠肝脏取出后洗净拍照, 比较各组肝脏结节数量, 取部分肝脏置于福尔马林固定, 制作石蜡切片, 用于 HE 染色及免疫组化染色, 剩余部分肝脏-80 °C冰箱冻存。

1.5 检测小鼠血清及肝脏 AFP、GSH、GSH-PX、CAT 含量

根据试剂盒说明书操作, 采用酶联免疫吸附测定法检测小鼠血清 AFP; 钼酸铵法检测小鼠血清、肝组织 CAT 含量; 微板法检测小鼠血清、肝组织 GSH 含量; 比色法检测小鼠血清、肝

组织 GSH-PX 含量。

1.6 检测小鼠肝脏 ROS 含量

采用 OCT 包埋剂对小鼠肝脏组织进行包埋，并进行切片处理，将其置于载玻片上。使用 PBS 将 DCFH-DA 稀释至 10 $\mu\text{mol/L}$ 的工作液浓度，然后在每张组织切片上滴加该工作液，在 37°C 的避光湿盒中孵育 60 min。ROS 阳性细胞将在整个核区内呈现绿色荧光，通过荧光显微镜检测其荧光强度。

1.7 检测小鼠肝脏 *Nrf2*、*Keap1*、*Nqo1*、*Ho-1*、*Gclc* mRNA 表达

取小鼠肝脏组织约 50 mg，加入 1 mL TransZol UP 组织匀浆裂解，按照试剂盒说明书提取总 RNA，随后逆转录为 cDNA 后进行 RT-qPCR 扩增，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 *Nrf2*、*Keap1*、*Nqo1*、*Ho-1*、*Gclc* mRNA 的相对表达水平。引物序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

Tab. 1 RT-qPCR primers sequences

Gene	Primer sequence (5'-3')
<i>β-actin</i>	F: TGACCGAGCGTGGCTACAG
	R: GGGCAACATAGCACAGCTTCT
<i>Nqo1</i>	F: GCAGATCCTGGAAGGATGGA
	R: GGTTGTCAGCTGGAATGGAC
<i>Ho-1</i>	F: CCTCACTGGCAGGAAATCATC
	R: CCTCGTGGAGACGCTTTACATA
<i>Nrf2</i>	F: CGAGATATACGCAGGAGAGGTAAGA
	R: GCTCGACAATGTTCTCCAGCTT
<i>Keap1</i>	F: GCTGGACATGGTGGCACATACTG
	R: GGCTGGCTTCCAACACTACTATGC
<i>Gclc</i>	F: AGTCCGACCAATGGAGGTG
	R: GGACAGCGGAATGAGGAAGT

1.8 检测小鼠肝脏 PCNA 蛋白表达

取石蜡包埋组织切片（4 μm）经梯度脱蜡水化后，严格遵循 ABC 法操作流程完成染色，使用光学显微镜系统随机选取 5 个非重叠视野进行图像采集，阳性判定标准为细胞核呈现清晰棕褐色染色颗粒。计算 PCNA 阳性细胞率。

1.9 统计学处理

实验数据采用 GraphPad Prism 7.03 软件统计分析，计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GLS 对小鼠一般情况及肝脏形态的影响

实验结束后，所有实验动物均存活，模型构建的成功率经病理验证达到 100%。与正常组相比，模型组小鼠出现毛发失去光泽和精神萎靡的现象；而与模型组相比，给药组在毛发和精神状态方面有显著改善。脏器形态学分析表明，对照组的肝脏表面光滑，模型组则可见典型的多灶性癌结节，而 GLS 干预组的肝脏表面结节数量及大小明显减少。见图 1。



图 1 小鼠肝脏大体图片

Fig.1 The gross images of mice liver

2.2 GLS 对小鼠肝脏 HE 染色的影响

HE 染色结果显示，对照组小鼠的肝组织显示出典型的肝组织结构，模型组的肝组织则表现出明显的病理改变，包括肝小叶结构界限不清、大量坏死灶及炎性细胞聚集，以及大量形态异常和分布紊乱的细胞核。相比之下，给药组的肝小叶结构紊乱程度显著降低，肝细胞变性现象得到明显缓解，细胞排列趋于规则化。见图 2。

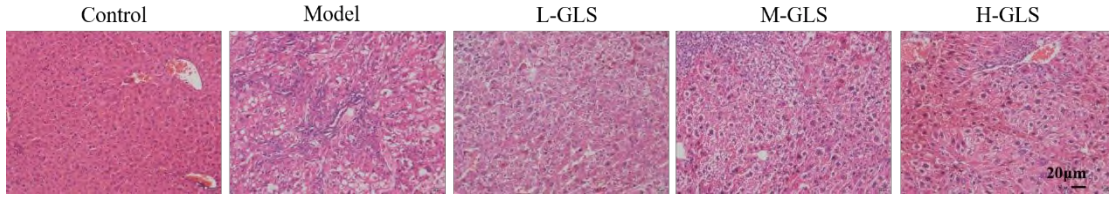


图 2 小鼠肝组织病理学观察 HE×200

Fig. 2 Histopathological analysis of mice liver HE×200

2.3 GLS 对小鼠肝脏结节数量的影响

通过计数肝脏表面癌结节数量发现，与模型组相比，GLS 干预组小鼠的癌结节总数及直径 < 2 mm 的微小结节数量均显著减少 ($P < 0.01$)，而直径 > 2 mm 的结节数量未见显著差异。见图 3。

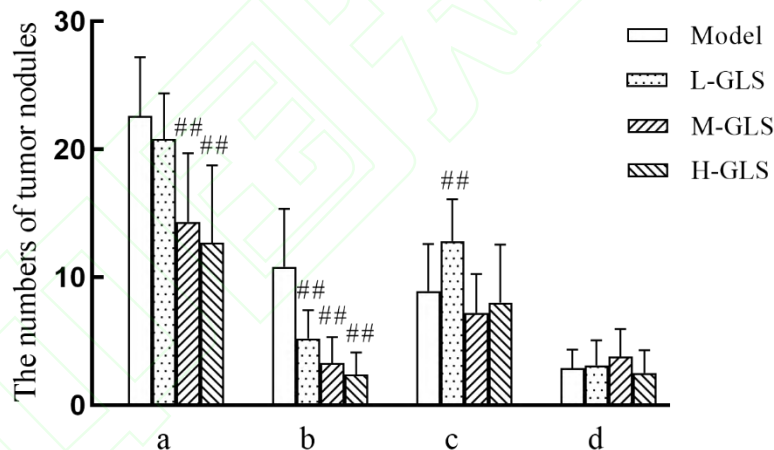


图 3 小鼠肝脏结节数

Fig. 3 The numbers of tumor nodules in mice liver

注：a: Total number of nodules; b: Number of nodules with diameters less than 2 mm; c: Number of nodules with diameters of 2-5 mm; d: Number of nodules larger than 5 mm; ## $P < 0.01$ vs Model group.

2.4 GLS 对小鼠血清 AFP 含量的影响

与对照组相比，模型组 AFP 含量升高 ($P < 0.01$)；与模型组相比，GLS 各组 AFP 含量降低 ($P < 0.01$)。见图 4。

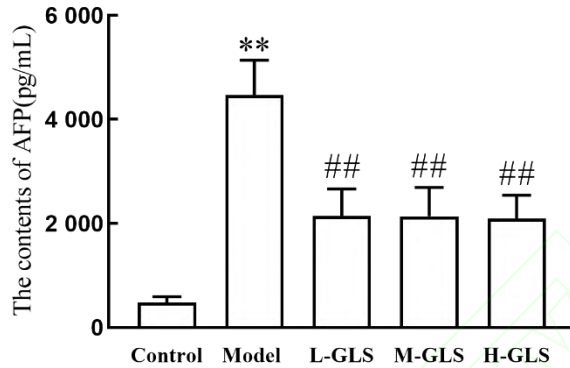


图 4 小鼠血清 APF 含量

Fig. 4 The contents of AFP in serum of mice

注: ** $P < 0.01$ vs Control group; ## $P < 0.01$ vs Model group.

2.5 GLS 对小鼠肝脏及血清 CAT、GSH、GSH-PX 含量的影响

与对照组相比, 模型组 CAT、GSH、GSH-PX 含量降低 ($P < 0.01$); 与模型组相比, GLS 各组 CAT、GSH、GSH-PX 含量显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 2。

表 2 小鼠肝脏及血清 CAT、GSH、GSH-PX 含量($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab. 2 The contents of CAT, GSH and GSH-PX in serum and liver of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Group	Liver			Serum		
	CAT (U/mg prot)	GSH (umol/mg pro)	GSH-PX (U/mg prot)	CAT (U/mL)	GSH (ng/mL)	GSH-PX (U/mL)
Control	62.1 ± 12.7	16.2 ± 2.7	339.2 ± 34.7	13.2 ± 3.5	3.8 ± 0.7	130.6 ± 21.4
Model	37.7 ± 10.9**	4.3 ± 1.6**	282.8 ± 25.4**	8.2 ± 1.3**	1.7 ± 0.6**	97.0 ± 7.0**
L-GLS	47.1 ± 11.5 [#]	6.8 ± 2.0 ^{##}	300.8 ± 22.2	10.7 ± 2.6 [#]	2.7 ± 0.9 [#]	109.2 ± 13.3 [#]
M-GLS	48.3 ± 10.4 [#]	10.0 ± 1.3 ^{##}	305.9 ± 20.0 [#]	11.2 ± 2.4 ^{##}	2.9 ± 0.9 [#]	118.5 ± 18.2 ^{##}

H-GLS	53.0±9.1 [#]	9.6±2.7 ^{##}	323.7±28.2 ^{##}	11.6±2.4 ^{##}	3.0±1.0 [#]	117.9±20.8 [#]
-------	-----------------------	-----------------------	--------------------------	------------------------	----------------------	-------------------------

注: ** $P < 0.01$ vs Control group; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ vs Model group.

2.6 GLS 对小鼠肝脏 ROS 含量的影响

图 5 显示,对照组的肝脏组织荧光强度较弱。与正常组相比,模型组的荧光强度有所增加 ($P < 0.01$)。然而,在给药后,GLS 中、高剂量组的荧光强度显著下降 ($P < 0.01$),表明 ROS 含量减少。

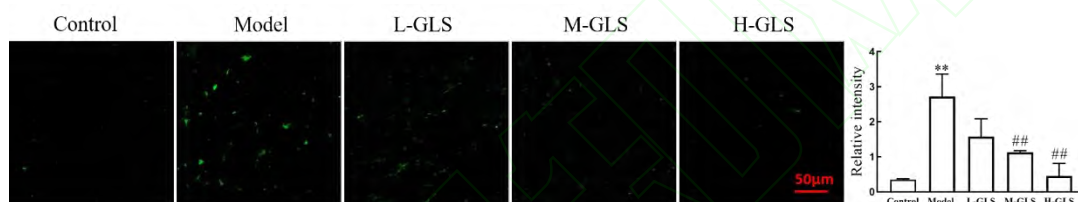


图 5 小鼠肝脏 ROS 含量 ×200

Fig.5 The content of ROS in mice liver ×200

注: ** $P < 0.01$ vs Control group; ^{##} $P < 0.01$ vs Model group.

2.7 GLS 对小鼠肝组织 PCNA 表达的影响

免疫组织化学染色结果显示,与对照组相比,模型组小鼠肝组织中 PCNA 的阳性表达率显著升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,GLS 中、高剂量干预组小鼠肝组织 PCNA 阳性表达率均显著降低 ($P < 0.01$),差异有统计学意义。见图 6。

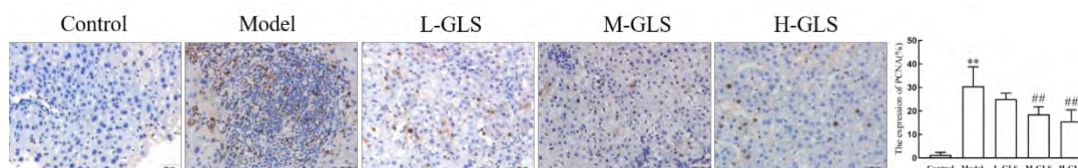


图 6 小鼠肝脏 PCNA 表达 ×200

Fig.6 The expression of PCNA in mice liver ×200

注: ** $P < 0.01$ vs Control group; ## $P < 0.01$ vs Model group.

2.8 GLS 对小鼠肝组织 *Nrf2*、*Keap1*、*Nqo1*、*Ho-1*、*Gclc* mRNA 表达的影响

RT-qPCR 结果显示,与正常对照组比较,模型组 *Nrf2*、*Ho-1*、*Gclc* mRNA 表达降低($P < 0.01$), *Keap1*、*Nqo1* mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比,给药后 *Nrf2*、*Ho-1*、*Gclc* mRNA 表达增加 ($P < 0.05$), *Keap1*、*Nqo1* mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)。见图 7。

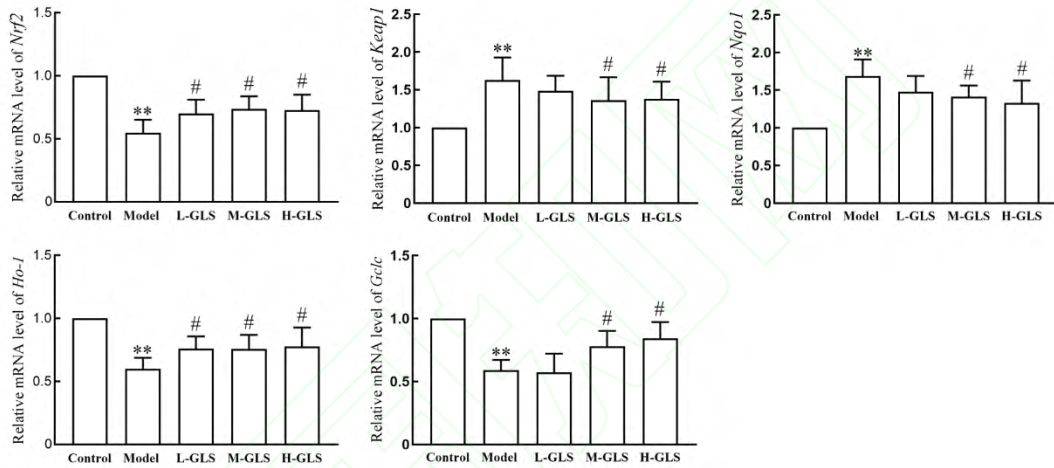


图 7 小鼠肝脏 *Nrf2*、*Keap1*、*Nqo1*、*Ho-1*、*Gclc* mRNA 表达

Fig. 7 The mRNA expression levels of *Nrf2*, *Keap1*, *Nqo1*, *Ho-1* and *Gclc* in mice liver

注: ** $P < 0.01$ vs Control group; # $P < 0.05$ vs Model group.

3 讨论

本研究选取 AFP 和 PCNA 作为药效评价指标。AFP 作为经典的肝细胞癌血清生物标志物^[8], 其血清浓度在 HCC 不同进展阶段均呈现显著上调。PCNA 作为细胞周期依赖性核蛋白, 在 DNA 复制与损伤修复过程中具有核心作用, 其表达水平可评估肿瘤细胞增殖活性^[9]。本研究检测 DEN/ CCl_4 诱导肝癌模型小鼠的血清 AFP 及肝组织 PCNA 表达特征, 证实该模型成功再现 HCC

特征性病理进展。经 GLS 干预后，干预组 AFP 及 PCNA 均显著下降，提示 GLS 对小鼠肝癌模型有一定疗效。

氧化应激作为 HCC 病理进程中的重要调控机制，在肿瘤发生、侵袭及转移等生物学行为中具有关键作用。生理状态下，肝细胞与巨噬细胞通过有氧呼吸及炎症反应等途径产生少量 ROS，当氧化-抗氧化系统稳态失衡时，ROS 水平异常升高，引发脂质过氧化、蛋白质变性及 DNA 氧化损伤等系列分子事件，最终导致细胞器功能障碍和病理性损伤^[10]。这种氧化应激状态的形成与 ROS 生成速率和抗氧化防御能力之间的动态平衡失调密切相关^[11-12]。

本研究聚焦于 Nrf2 信号通路在 HCC 氧化应激调控中的作用机制。Nrf2 通过与 Keap1 形成复合物维持动态平衡，该信号轴作为细胞氧化还原稳态的核心调节系统，通过调控 II 相解毒酶表达发挥关键性抗氧化防御功能^[13-14]。在生理状态下，Nrf2-Keap1 复合体主要定位于细胞质，当暴露于外源性毒性刺激时，复合体发生构象变化，导致 Nrf2 核转位并启动下游靶基因（包括 Nqo1、Ho-1 及 Gclc）的转录调控，从而增强细胞抗氧化应激能力^[15-17]。HCC 细胞通过异常激活 Nrf2 通路建立适应性氧化防御体系，这为靶向干预提供了理论依据。

实验数据显示，DEN/CCl₄ 诱导的 HCC 模型小鼠肝组织 ROS 水平显著升高，而 GLS 干预组 ROS 含量显著下降。抗氧化系统检测表明，GLS 可显著提升过 CAT 活性、GSH 及 GSH-Px 活性并上调 Nqo1、Ho-1 及 Gclc mRNA 表达，证实其通过重塑 Nrf2/Keap1 信号通路动态平衡发挥肝保护作用，GLS 保护小鼠肝癌模型作用示意图见图 8。

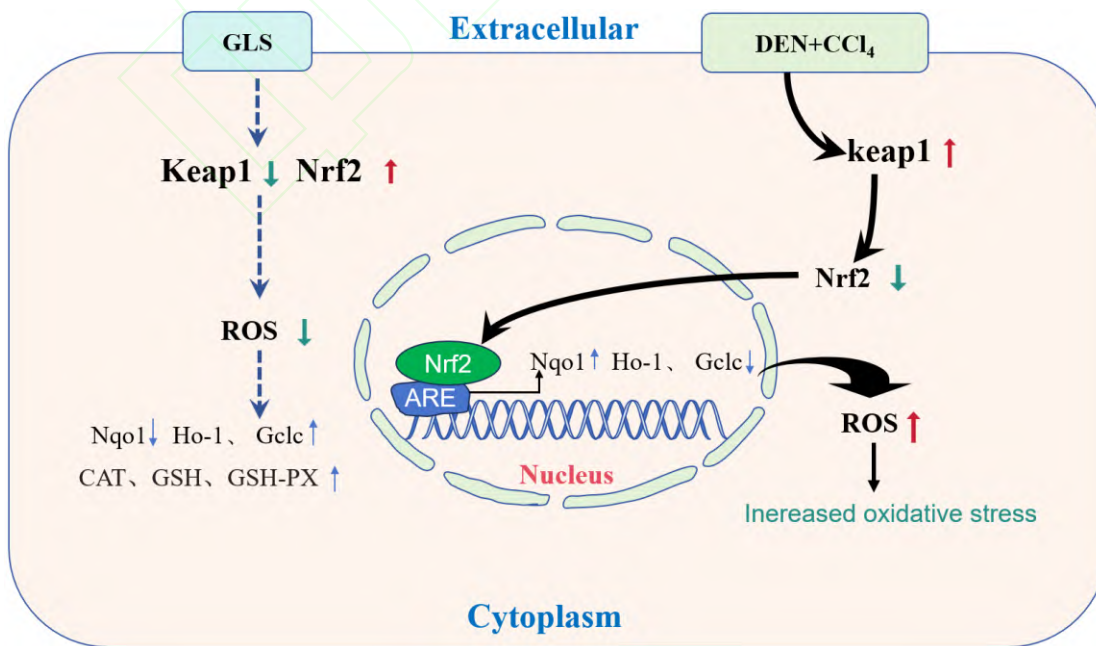


图 8 GLS 保护小鼠肝癌模型作用示意图

Fig. 8 Schematic representation of the protective effect of GLS in a mouse model of liver cancer

本研究阐明 GLS 改善 HCC 氧化应激微环境的作用机制，为肝癌治疗提供了新的候选药物及有可能的潜在作用靶点。不足之处在于，对机制探索不够深入。后续研究需进一步解析 GLS 对 Nrf2 核转位及 Keap1 蛋白分子伴侣功能的调控细节及其表观遗传修饰机制，找到 GLS 对 HCC 明确的作用靶点。

参 考 文 献

- [1] Wang Y, Deng B. Hepatocellular carcinoma: molecular mechanism, targeted therapy, and biomarkers[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2023, 42(3): 629-52. doi: 10.1007/s10555-023-10084-4.
- [2] 王美丹, 胡 扬, 宋 辉, 等. 灵芝孢子粉化学成分和药理作用的研究进展及其质量标志物 (Q-Marker) 预测分析[J]. *中草药*, 2023, 54(23): 7918-33. doi:10.7501/j.issn.0253-2670.2023.23.034.
- [2] Wang M D, Hu Y, Song H, et al. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of *Ganoderma lucidum* spore and prediction analysis of quality marker[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(23): 7918-33. doi:10.7501/j.issn.0253-2670.2023.23.034.
- [3] Ye T, Ge Y, Jiang X, et al. A review of anti-tumour effects of *Ganoderma lucidum* in gastrointestinal cancer[J]. *Chin Med*, 2023, 18: 107. doi:10.1186/s13020-023-00811-y.
- [4] 柴秀丽, 宛 蕾, 李龙宽, 等. 破壁灵芝孢子粉对人肝癌 SMMC-7721 细胞裸鼠皮下瘤体增殖及血管生成的研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2018, 45(1): 152-5, I0005. doi:10.13192/j.issn.1000-1719.2018.01.046.
- [4] Chai Xiuli, Wan L, Li L K, et al. Effect of *Ganoderma lucidum* spore powder on proliferation and angiogenesis of human hepatoma SMMC-7721 cells in nude mice[J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2018, 45(1): 152-5, I0005. doi:10.13192/j.issn.1000-1719.2018.01.046.
- [5] Jin H, Jin F, Jin J X, et al. Protective effects of *Ganoderma lucidum* spore on cadmium hepatotoxicity in mice[J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 52: 171-5. doi:10.1016/j.fct.2012.05.040.
- [6] 金 海, 刘 倩, 朱加兴, 等. 破壁灵芝孢子粉对肝癌小鼠的治疗及作用机制[J]. *世界中医药*, 2025, 20(4): 593-8. doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2025.04.009
- [6] Jin H, Liu Q, Zhu J X, et al. Therapeutic effects and mechanisms of wall-broken *Ganoderma lucidum* spore powder on hepatocellular carcinoma in mice[J]. *World Chin Med*, 2025, 20(4): 593-8.

doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2025.04.009

[7] Gu C Y, Lee T K W. Preclinical mouse models of hepatocellular carcinoma: an overview and update[J]. *Exp Cell Res*, 2022, 412(2): 113042. doi:10.1016/j.yexcr.2022.113042.

[8] 严 成, 陈新国, 金海龙, 等. 基于术前血清学指标 AFP 和 GGT 的标准在预测肝细胞癌患者肝移植术后长期生存中的作用研究[J]. *器官移植*, 2023, 14(2): 248-56.

doi:10.3969/j.issn.1674-7445.2023.02.011.

[8] Yan C, Chen X G, Jin H L, et al. Role of the criteria based on preoperative serological indexes of AFP and GGT in predicting long-term survival of patients with hepatocellular carcinoma after liver transplantation[J]. *Organ Transplant*, 2023, 14(2): 248-56. doi:10.3969/j.issn.1674-7445.2023.02.011.

[9] 单长民, 刘同慎, 李 娟, 等. 人肝细胞癌中 PCNA 和 RAB10 水平上调 miR-224 表达下调[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2020, 29(1): 41-5. doi:10.16705/j.cnki.1004-1850.2020.01.007.

[9] Shan C M, Liu T S, Li J, et al. Upregulation of PCNA and RAB10 level and downregulation of miR-224 expression in human hepatocellular carcinoma[J]. *Chin J Histochem Cytochem*, 2020, 29(1): 41-5. doi:10.16705/j.cnki.1004-1850.2020.01.007.

[10] Li J, Pan L, Pan W, et al. Recent progress of oxidative stress associated biomarker detection[J]. *Chem Commun*, 2023, 59(48): 7361-74. doi:10.1039/d3cc00878a.

[11] Jelic M D, Mandic A D, Maricic S M, et al. Oxidative stress and its role in cancer[J]. *J Cancer Res Ther*, 2021, 17(1): 22-8. doi:10.4103/jcrt.jcrt_862_16.

[12] Akiyama Y, Ivanov P. Oxidative stress, transfer RNA metabolism, and protein synthesis[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2024, 40(10-12): 715-35. doi:10.1089/ars.2022.0206.

[13] 胡思义, 王 梅, 高 宁. NRF2 信号通路在结肠癌发生、转移和耐药中的作用[J]. *遵义医科大学学报*, 2022, 45(6): 797-803. doi:10.14169/j.cnki.zunyixuebao.2022.0119.

[13] Hu S Y, Wang M, Gao N. Role of NRF2 signaling pathway in occurrence, metastasis and drug resistance of colon cancer[J]. *J Zunyi Med Univ*, 2022, 45(6): 797-803. doi:10.14169/j.cnki.zunyixuebao.2022.0119.

[14] 王碧红, 聂潇雨, 丁威杰, 等. 褪黑素通过调控 Nrf2 通路对甲醛暴露致大鼠急性肺损伤的保护作用[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(1): 23-8.

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.004.

[14] Wang B H, Nie X Y, Ding W J, et al. Protective effect of melatonin on formaldehyde exposure-induced acute lung injury in rats through modulation of the Nrf2 pathway[J]. *Acta Univ Med*

Anhui, 2024, 59(1): 23-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.004.

[15] Song M Y, Lee D Y, Chun K S, et al. The role of NRF2/KEAP1 signaling pathway in cancer metabolism[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4376. doi:10.3390/ijms22094376.

[16] Panieri E, Telkoparan-Akillilar P, Suzen S, et al. The NRF2/KEAP1 axis in the regulation of tumor metabolism: mechanisms and therapeutic perspectives[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(5): 791. doi:10.3390/biom10050791.

[17] Occhiuto C J, Moerland J A, Leal A S, et al. The multi-faceted consequences of NRF2 activation throughout carcinogenesis[J]. *Mol Cells*, 2023, 46(3): 176-86. doi:10.14348/molcells.2023.2191.