



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.01.010  
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2018.01.010  
Chinese Journal of General Surgery, 2018, 27(1):61-67.

· 基础研究 ·

## 葫芦素 I 对肝癌细胞生长的抑制作用及其与 STAT3 通路 相关抗凋亡因子的关系

王成志<sup>1</sup>, 彭元亮<sup>2</sup>, 史夏青<sup>1</sup>, 周晓庆<sup>3</sup>, 杨满意<sup>1</sup>, 赵劲风<sup>1</sup>, 廖明媚<sup>1</sup>

(中南大学湘雅医院 1. 卫生部纳米生物技术重点实验室 3. 神经内科, 湖南长沙 410008; 2. 中南大学生命科学学院, 湖南长沙 410078)

### 摘要

**目的:** 探讨葫芦素 I 对肝癌细胞生长的抑制作用及机制。

**方法:** 采用 CCK-8 法检测葫芦素 I 对不同肝癌细胞 (HepG2、QGY-7703、SMMC-7721) 增殖活力的影响; 葫芦素 I 处理 HepG2 细胞后, 分别用细胞平板克隆形成实验、流式细胞术、Hochest 33342 染色观察细胞克隆形成、细胞周期、凋亡情况, 并用 Western blot 和 qRT-PCR 检测抗凋亡因子及其相关信号分子蛋白和 mRNA 表达变化。

**结果:** 葫芦素 I 处理后, 不同肝癌细胞的增殖均明显抑制, 并呈时间与浓度依赖性 (均  $P < 0.05$ ); 葫芦素 I 对 HepG2、QGY-7703、SMMC-7721 细胞 48 h 的 IC<sub>50</sub> 值分别为 0.19、4.16、1.13  $\mu\text{mol/L}$ 。HepG2 细胞经葫芦素 I 处理 24 h 后, 克隆形成几乎被完全抑制, 出现典型的细胞凋亡形态变化和明显的 G<sub>2</sub> 期阻滞; 抗凋亡因子 Mcl-1、survivin 以及转录因子 STAT3 蛋白与 mRNA 的表达均明显下调, mRNA 半定量分析显示差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。

**结论:** 葫芦素 I 抑制肝癌细胞的生长, 其作用机制可能与 STAT3 通路下调抗凋亡相关蛋白表达, 从而增加细胞凋亡有关。

### 关键词

癌, 肝细胞; 葫芦素类; 细胞凋亡; STAT3 转录因子; 凋亡调节蛋白质类  
中图分类号: R735.7

## Inhibitory effect of cucurbitacin I on hepatocellular carcinoma cells and its relation with anti-apoptotic factors related to STAT3 signaling pathway

WANG Chengzhi<sup>1</sup>, PENG Yuanliang<sup>2</sup>, SHI Xiaqing<sup>1</sup>, ZHOU Xiaoqing<sup>3</sup>, YANG Manyi<sup>1</sup>, ZHAO Jinfeng<sup>1</sup>, LIAO Mingmei<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Nanobiological Technology of Chinese Ministry of Health 3. Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 2. College of Life Science, Central South University, Changsha 410078, China)

### Abstract

**Objective:** To investigate the influence of cucurbitacin I on growth of hepatocellular carcinoma (HCC) cells and the mechanism.

**基金项目:** 中南大学中央高校基本科研业务费专项资金资助项目 (2017zzts391); 国家自然科学基金资助项目 (81302075; 81272193; 81402001)。

**收稿日期:** 2017-07-12; **修订日期:** 2017-12-18。

**作者简介:** 王成志, 中南大学湘雅医院硕士研究生, 主要从事肝癌的发生发展与耐药机制方面的研究。

**通信作者:** 廖明媚, Email: rosnow@163.com

**Methods:** The influences of cucurbitacin I on proliferative activities of different types of HCC cells (HepG2, QGY-7703 and SMMC-7721) were measured by CCK-8 assay. In HepG2 cells after treatment with cucurbitacin I, the colony formation, cell cycle profile and apoptosis were examined by plate colony-forming assay, flow cytometry and Hoechst 33342 staining, and the protein and mRNA expressions of anti-apoptotic factors and their related signaling molecules were determined by Western blot analysis and qRT-PCR method, respectively.

**Results:** The proliferations of all the selected HCC cells were significantly inhibited by cucurbitacin I treatment, with a time- and concentration-dependent manner (all  $P < 0.05$ ), and the 48-h IC50 value of cucurbitacin I for HepG2, QGY-7703 and SMMC-7721 was 0.19, 4.16 and 1.13  $\mu\text{mol/L}$ , respectively. In HepG2 cells after cucurbitacin I treatment for 24 h, the clone formation was almost completely suppressed, typical apoptotic morphological changes and evident G2-phase arrest were presented, and both protein and mRNA expressions of the anti-apoptotic factors Mcl-1 and survivin as well as the transcription factor STAT3 were markedly down-regulated, and the semi-quantitative analysis of mRNA expressions showed all differences had statistical significance (all  $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Cucurbitacin I can suppress the growth of HCC cells, and the mechanism may be associated with its down-regulating the expressions of anti-apoptotic factors through STAT3 signaling pathway, and thereby inducing cell apoptosis.

**Key words** Carcinoma, Hepatocellular; Cucurbitacins; Apoptosis; STAT3 Transcription Factor; Apoptosis Regulatory Proteins

**CLC number:** R735.7

肝癌是世界上第六大癌症，肿瘤致死率排名第二<sup>[1]</sup>。晚期肝癌的治疗仍是一个世界性难题，化疗虽可延长晚期肝癌患者的生存期，但毒副作用较大，分子靶向治疗具有无限前景，找到靶向治疗的肝癌药物迫在眉睫。

葫芦素 I (cucurbitacin I) 又名 JSI-124，是从葫芦科植物中提取出来的三萜甾醇类物质<sup>[2]</sup>，最近的研究表明葫芦素 I 具有潜在的抗癌效果，能引起胶质母细胞瘤<sup>[3]</sup>、乳腺癌<sup>[4]</sup>、骨肉瘤<sup>[5]</sup>及肝癌<sup>[6]</sup>等肿瘤细胞发生凋亡，而葫芦素 I 引起肿瘤细胞凋亡的分子机制复杂。在乳腺癌<sup>[4]</sup>和骨肉瘤<sup>[5]</sup>中，葫芦素 I 抑制信号转导子与转录因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 的激活，抑制细胞侵袭和转移。在肝癌中，葫芦素 I 激活 P53 信号<sup>[6]</sup>，上调促凋亡蛋白 Fas 及 Bax 的表达引起细胞凋亡。葫芦素 I 还能通过抑制血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR2)、成纤维细胞生长因子受体 1 (FGFR1) 和 p-STAT3 抑制细胞增殖和血管生成<sup>[7-8]</sup>。葫芦素 I 还能激活 NF- $\kappa$ B 信号通路<sup>[3]</sup>，引起 IL-6、IL-8 和 SOCS3 的表达升高。然而其对肝癌的作用和机制目前尚不完全明确，本研究拟探讨葫芦素 I 对肝癌的作用及其潜在的分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人肝癌细胞 HepG2、QGY-7703、SMMC-7721 均来自本实验室冻存。葫芦素 I 购自 Sigma 公司，STAT3、磷酸化 STAT3 (p-STAT3)、髓样细胞白血病 1 (myeloid cell leukemia 1, Mcl-1)、survivin、GAPDH 一抗和二抗购自 Cell Signaling Technology 公司。CCK-8 试剂盒购买自同仁化学公司，TRIzol 购买自 Invitrogen 公司，逆转录试剂盒购买自东洋纺公司，SYBR Green 染料购买自 Biotool 公司，细胞周期检测试剂盒购买自美国 BD 公司，Hoechst 33342 购买自碧云天公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 肝癌细胞 (HepG2、QGY-7703、SMMC-7721) 培养于 10% 胎牛血清，1% 青霉素和链霉素，37  $^{\circ}\text{C}$ ，5%  $\text{CO}_2$ ，DMEM 培养基中。

**1.2.2 CCK-8 法检测细胞活力** 将肝癌细胞 (HepG2、QGY-7703、SMMC-7721) 接种于 96 孔板，每孔 8 000 个细胞，每组 5 个复孔，待细胞贴壁后，加入含有不同浓度的葫芦素的培养基，继续培养 24、48 h，每孔加入 10  $\mu\text{L}$  CCK-8 溶液，继

续孵育2 h,检测450 nm处吸光值。

**1.2.3 细胞平板克隆形成实验** 将HepG2细胞接种于6孔板中,每孔100~200个细胞,每组2个复孔。培养过夜后更换含有不同浓度的葫芦素I的培养基继续培养2周,待形成肉眼可见克隆时终止培养,PBS清洗3次,室温干燥,甲醇固定20 min,弃甲醇后加入吉姆萨工作液染色30 min,流水洗净,干燥后肉眼观察计数细胞克隆数。

**1.2.4 流式细胞术检测细胞周期** 收集处理好的细胞,加入800  $\mu$ L PBS+0.5%BSA洗涤1次,离心去上清,加入10  $\mu$ L破膜剂处理1 min,加入100  $\mu$ L PI染液,室温下静置20 min,加入400  $\mu$ L PBS+0.5%BSA重悬细胞,流式细胞仪检测分析细胞周期。

**1.2.5 Hoechst 33342 染色检测细胞凋亡** 收集处理好的细胞,加入100  $\mu$ L 0.01 mg/mL的Hoechst 33342染液,避光染色10 min,PBS洗2次,重悬细胞后滴在干净的载玻片上,并在载玻片一端滴入少许封片剂,取干净的盖玻片从一端缓慢盖下,避免气泡产生,制好后荧光显微镜下观察并拍照。

**1.2.6 Western blot** 收集处理后的细胞,提取细胞总蛋白,10%的SDS-PAGE凝胶电泳,250 mA转膜至PVDF膜,5%BSA封闭1 h,一抗4  $^{\circ}$ C孵育过夜,TBST洗膜3次,二抗孵育1 h,TBST洗膜3次,ECL化学发光显影。

**1.2.7 实时定量PCR** 收集处理的细胞,TRIzol法提取细胞总RNA,根据试剂盒说明逆转录成cDNA。实时PCR采用SYBR Green染料法,根据

说明书体系进行扩增,使用 $\beta$ -actin作为内参基因。QuantStudio™实时PCR软件分析基因相对表达情况。引物序列(5'→3')STAT3(上游:GGA GAA ACA GGA TGG CCC AA,下游:ATC CAA GGG GCC AGA AAC TG);Mcl-1(上游:CAC TTC CGC TTC CTT CCA GT,下游:GGT GGC CAA AAG TCG CCC);Survivin(上游:AGG ACC ACC GCA TCT CTA CA,下游:TTT CCT TTG CAT GGG GTC GT); $\beta$ -actin(上游:CAT GTA CGT TGC TAT CCA GGC,下游:CTC CTT AAT GTC ACG CAC GAT)。

### 1.3 统计学处理

所有计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,所有实验独立重复3次,采用SPSS 18.0统计学软件进行数据分析,应用重复测量设计方差分析和t检验统计方法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 葫芦素I对肝癌细胞增殖活性的影响

用不同浓度的(0.5、1、5、10  $\mu$ mol/L)葫芦素I处理肝癌细胞(HepG2、QGY-7703、SMMC-7721)24、48 h,CCK-8法分析葫芦素I对肝癌细胞的细胞活力的影响,结果显示,各浓度的葫芦素I均能抑制肝癌细胞的增殖,并具有时间和浓度依赖性(均 $P<0.05$ )。3种细胞48 h的 $IC_{50}$ 值分别是0.19、4.16、1.13  $\mu$ mol/L(图1)。

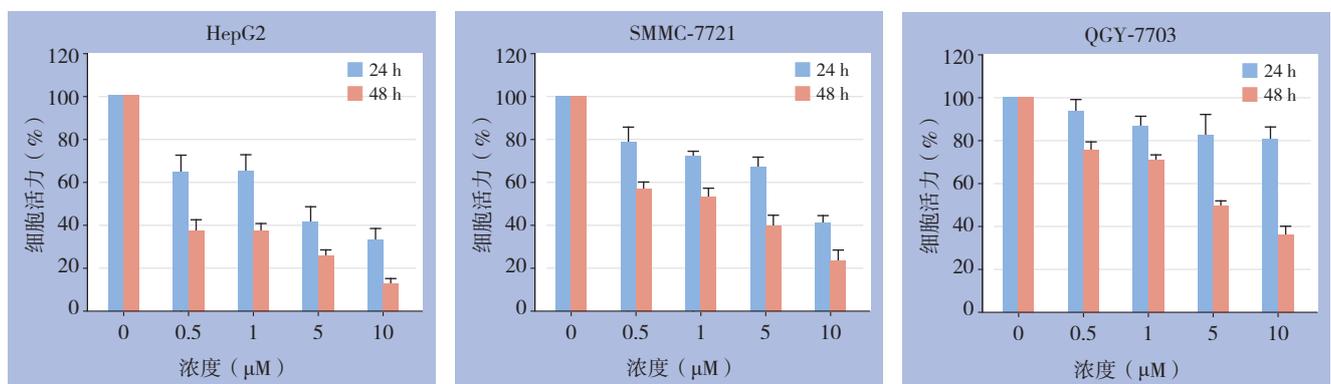


图1 葫芦素I处理后肝癌细胞增殖活力变化

Figure 1 Changes in proliferative viabilities of different types of HCC cells after cucurbitacin I treatment

### 2.2 葫芦素I对肝癌细胞HepG2克隆形成的影响

细胞平板克隆形成实验分析葫芦素I对肝癌细胞HepG2的克隆形成能力的影响,结果显示,

1  $\mu$ mol/L的葫芦素I处理几乎完全抑制了HepG2细胞的克隆形成(图2)。

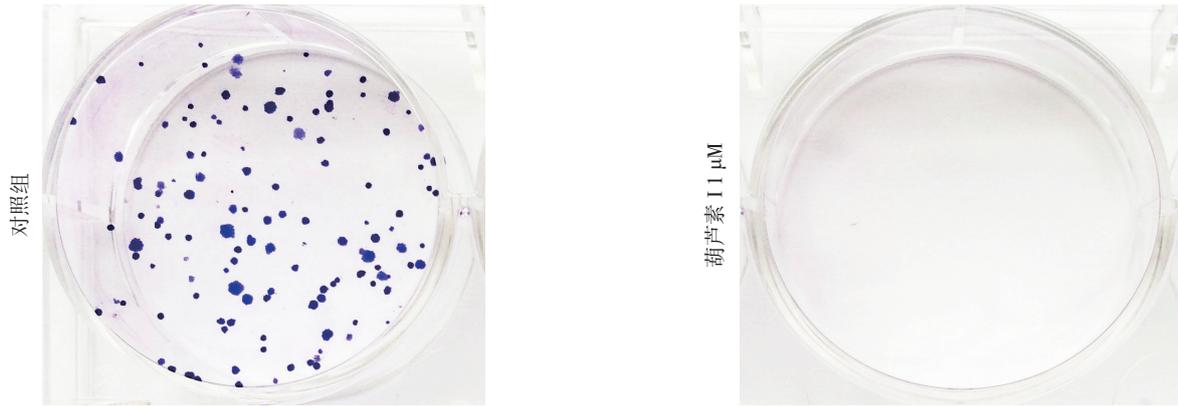


图 2 葫芦素 I 处理 HepG2 后细胞克隆形成情况  
 Figure 2 Colony-forming ability of HepG2 after cucurbitacin I treatment

2.3 葫芦素 I 对 HepG2 细胞的细胞周期的影响

流式细胞术检测葫芦素 I 处理 HepG2 细胞 24 h 后细胞周期变化, 结果显示, 1 μmol/L 的葫芦素 I

引起 HepG2 细胞周期改变, 使细胞周期阻滞在 G<sub>2</sub> 期 (图 3)。

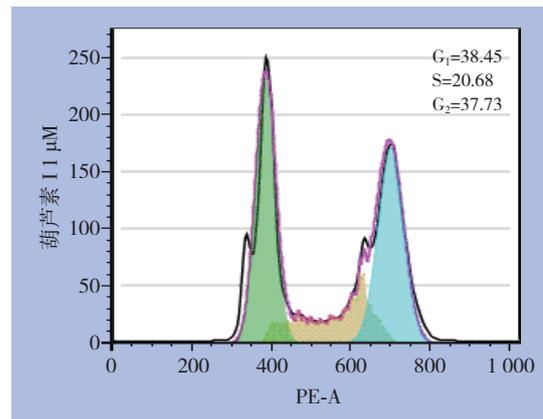
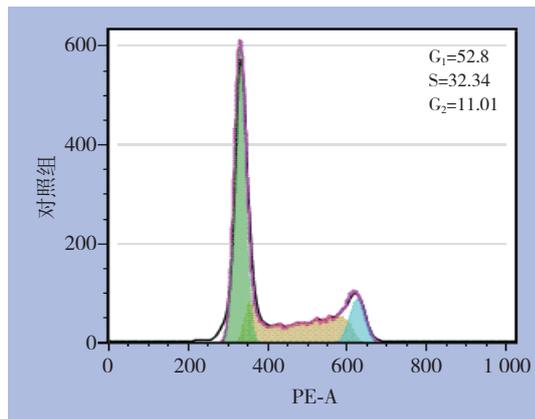


图 3 葫芦素 I 处理后 HepG2 细胞的细胞周期变化  
 Figure 3 Changes in cell cycle of HepG2 cells after cucurbitacin I treatment

2.4 葫芦素 I 对 HepG2 细胞凋亡的影响

葫芦素 I 处理 HepG2 细胞 24 h 后, Hoechst 33342 染色分析细胞凋亡情况。结果显示, 1 μmol/L

葫芦素 I 处理后染色质皱缩、细胞核固缩、核裂解, 出现凋亡小体等典型的细胞凋亡形态变化 (图 4)。

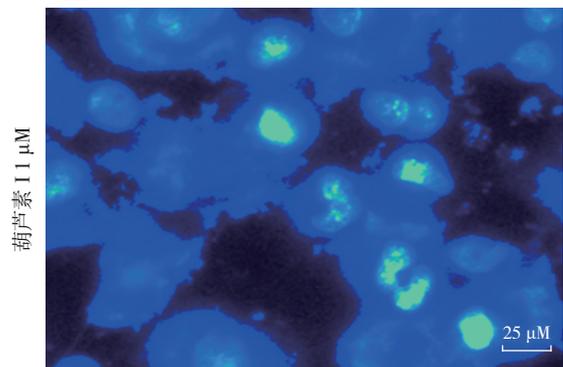
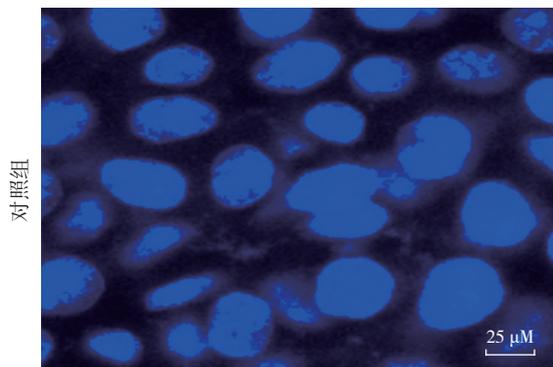


图 4 葫芦素 I 处理后 HepG2 细胞形态变化 ( × 400 )  
 Figure 4 Morphological change of HepG2 cells after cucurbitacin I treatment ( × 400 )

## 2.5 葫芦素I处理 HepG2 细胞后蛋白表达变化

用Western blot分析葫芦素I处理HepG2细胞24 h后蛋白表达变化,结果显示,5、10  $\mu\text{mol/L}$ 的葫芦素I处理后,抗凋亡蛋白Mcl-1、survivin的表达均明显下调;同时,5、10  $\mu\text{mol/L}$ 的葫芦素I处理后,STAT3及其磷酸化分子p-STAT3的表达均明显下调(图5)。

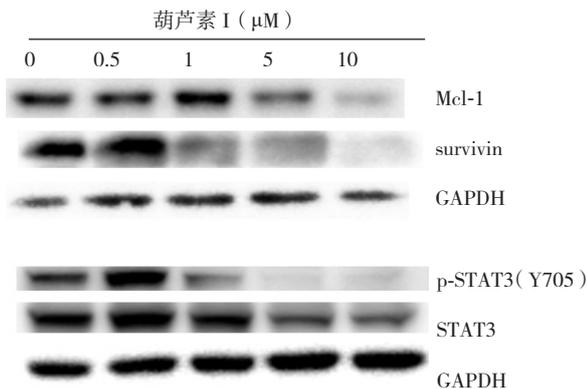


图5 葫芦素I处理后 HepG2 细胞抗凋亡因子及其相关信号分子蛋白的表达

Figure 5 The protein expressions of anti-apoptotic factors and the related signaling molecules in HepG2 cells after cucurbitacin I treatment

## 2.6 葫芦素I处理 HepG2 细胞后 mRNA 表达相对变化

用实时定量PCR分析葫芦素I处理HepG2细胞前后mRNA的相对变化,结果(图6)显示,与对照组比较,1  $\mu\text{mol/L}$ 葫芦素I处理组STAT3、Mcl-1、survivin的mRNA表达均明显下调( $P=0.000$ 、 $0.005$ 、 $0.000$ )。

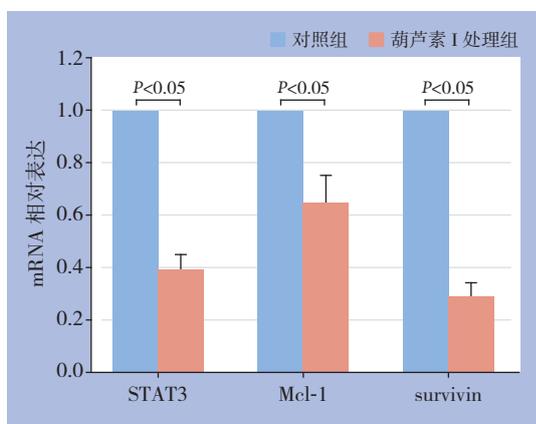


图6 葫芦素I处理后 HepG2 细胞抗凋亡因子及其相关信号分子 mRNA 的表达

Figure 6 The mRNA expressions of anti-apoptotic factors and the related signaling molecules in HepG2 cells after cucurbitacin I treatment

## 3 讨论

Mcl-1是Bcl-2家族中的主要抗凋亡蛋白<sup>[9]</sup>,在肝癌中高表达,与肝癌的生存和耐药相关,抑制Mcl-1可增加肝癌对化疗药物的敏感性<sup>[10]</sup>。针对Mcl-1开发的抑制剂S63845具有广谱的抗癌效果,且具有较好的安全性<sup>[11]</sup>。生存蛋白survivin在肝癌中高表达,促进肝癌细胞增殖和生存,降低肝癌细胞对化疗药物的敏感性<sup>[12-14]</sup>。因此Mcl-1和survivin可能是治疗肝癌的潜在靶点。本研究发现,葫芦素I不仅抑制Mcl-1和survivin的蛋白表达,还下调其mRNA的表达水平,这与在骨肉瘤细胞<sup>[5]</sup>研究结果一致。

STAT3是与肿瘤相关的一个主要转录因子,在肝癌中持续活化,活化状态的STAT3(p-STAT3 Y705)能进入细胞核调控下游基因表达<sup>[15-16]</sup>,促进细胞增殖与存活。有大量研究<sup>[17-20]</sup>表明,抗凋亡Mcl-1和Survivin是STAT3信号通路的下游基因,抑制STAT3通路能显著抑制其下游基因Mcl-1和Survivin的表达。已经发现葫芦素I能抑制Mcl-1和survivin的表达,其是否通过STAT3通路尚不明确,我们的研究结果显示葫芦素I抑制了STAT3的激活,还下调Mcl-1和survivin的mRNA的表达水平,说明葫芦素I是通过STAT3信号通路抑制Mcl-1和survivin的表达。本研究还发现葫芦素I还从转录水平抑制STAT3的表达,与其在塞扎里综合征中的结果一致<sup>[21]</sup>,STAT3 mRNA表达下调也与microRNA的调控相关<sup>[22]</sup>。非磷酸化的STAT3也能进入细胞核与染色质结合,维持染色质的稳定,调控基因的表达<sup>[23-24]</sup>,葫芦素I抑制STAT3的表达还可能破坏染色质的稳定性,造成DNA损伤,其细胞内的具体机制还有待进一步的研究。

肿瘤的发展还与细胞周期密切相关,有研究发现葫芦素I能下调cyclin B1和cdc2的表达<sup>[25]</sup>,葫芦素D也能引起细胞周期阻滞在G<sub>2</sub>/M期<sup>[26]</sup>。本研究发现,葫芦素I能使HepG2细胞周期阻滞在G<sub>2</sub>期。

本研究发现,葫芦素I能抑制肝癌细胞(HepG2、QGY-7703、SMMC-7721)的增殖,且具有时间和浓度依赖性。葫芦素I抑制HepG2细胞的克隆形成,阻滞周期进展。葫芦素I通过STAT3信号通路抑制Mcl-1和survivin的表达,引起HepG2细胞凋亡。尽管在细胞水平葫芦素I对肝癌细胞凋

亡表现出较好效果，但由于生物体的复杂性，在体内是否有同样显著效果还有待进一步研究。

葫芦素I能抑制肝癌细胞增殖，引起细胞周期阻滞，诱导凋亡发生，其初步的分子机制是葫芦素抑制STAT3的激活，从而抑制其下游抗凋亡蛋白Mcl-1、survivin的表达。葫芦素I可能作为一种治疗肝癌的靶向药物。

## 参考文献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2):87–108. doi: 10.3322/caac.21262.
- [2] Chen JC, Chiu MH, Nie RL, et al. cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities[J]. *Nat Prod Rep*, 2005, 22(3):386–399.
- [3] McFarland BC, Gray GK, Nozell SE, et al. Activation of the NF- $\kappa$ B pathway by the STAT3 inhibitor JSI-124 in human glioblastoma cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(5):494–505. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0528.
- [4] Qi J, Xia G, Huang C R, et al. JSI-124 (cucurbitacin I) inhibits tumor angiogenesis of human breast cancer through reduction of STAT3 phosphorylation[J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43(2):337–347. doi: 10.1142/S0192415X15500226.
- [5] Oi T, Asanuma K, Matsumine A, et al. STAT3 inhibitor, cucurbitacin I, is a novel therapeutic agent for osteosarcoma[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(6):2275–2284. doi: 10.3892/ijo.2016.3757.
- [6] 吴思思, 朱国念, 倪银芸, 等. 葫芦素 I (JSI-124)通过p53信号通路诱导HepG2细胞凋亡[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(1):33–38.  
Wu SS, Zhu GN, Ni YY, et al. cucurbitacin I (JSI-124)-induced apoptosis of HepG2 cells via p53 signaling pathway[J]. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2017, 33(1):33–38.
- [7] Yuan G, Yan S, Xue H, et al. JSI-124 suppresses invasion and angiogenesis of glioblastoma cells in vitro[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e118894. doi: 10.1371/journal.pone.0118894.
- [8] Kim HJ, Kim J. Antiangiogenic effects of cucurbitacin-I[J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(2):290–298. doi: 10.1007/s12272-014-0386-5.
- [9] Zhao J, Xin M, Wang T, et al. Nicotine enhances the antiapoptotic function of Mcl-1 through phosphorylation[J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(12):1954–1961. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0304.
- [10] Liao M, Zhao J, Wang T, et al. Role of bile salt in regulating Mcl-1 phosphorylation and chemoresistance in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10:44. doi: 10.1186/1476-4598-10-44.
- [11] Kotschy AS, Szlavik ZN, Murray J, et al. The MCL1 inhibitor S63845 is tolerable and effective in diverse cancer models[J]. *Nature*, 2016, 538(7626):477–482. doi: 10.1038/nature19830.
- [12] Su C. Survivin in survival of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2016, 379(2):184–190. doi: 10.1016/j.canlet.2015.06.016.
- [13] 李志红, 王志明, 穆拉德, 等. 三氧化二砷与阿霉素对人肝癌细胞株HepG2中survivin表达的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2005, 14(6):441–447.  
Li ZH, Wang ZM, MU LD, et al. Effects of arsenic trioxide and adriamycin on survivin expression in hepatocellular carcinoma cell line HepG2[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2005, 14(6):441–447.
- [14] 龙厚勇, 刘君, 郑启昌. Survivin在肝细胞性肝癌中的表达及其临床意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2007, 16(3):281–283.  
Long HY, Liu J, Zheng QC. Expression and clinical significance of survivin in hepatocellular carcinoma[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2007, 16(3):281–283.
- [15] Carpenter RL, Lo HW. STAT3 Target Genes Relevant to Human Cancers[J]. *Cancers (Basel)*, 2014, 6(2):897–925. doi: 10.3390/cancers6020897.
- [16] 廖明媚, 王成志, 杨满意, 等. JAK2-STAT3信号通路在肝细胞癌中的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2017, 26(1):102–108. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.01.017.  
Liao MM, Wang CZ, Yang MY, et al. Research progress of JAK2-STAT3 signaling pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2017, 26(1):102–108. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.01.017.
- [17] Wang J, Zhang G, Dai C, et al. Cryptotanshinone potentiates the antitumor effects of doxorubicin on gastric cancer cells via inhibition of STAT3 activity[J]. *J Int Med Res*, 2017, 45(1):220–230. doi: 10.1177/0300060516685513.
- [18] Radhakrishnan H, Ilm K, Walther W, et al. MACC1 regulates Fas mediated apoptosis through STAT1/3 – Mcl-1 signaling in solid cancers[J]. *Cancer Letters*, 2017, 403:231–245. doi: 10.1016/j.canlet.2017.06.020.
- [19] Lee DH, Sung KS, Bartlett DL, et al. HSP90 inhibitor NVP-AUY922 enhances TRAIL-induced apoptosis by suppressing the JAK2-STAT3-Mcl-1 signal transduction pathway in colorectal cancer cells[J]. *Cell Signal*, 2015, 27(2):293–305. doi: 10.1016/j.cellsig.2014.11.013.
- [20] Li S, Priceman S J, Xin H, et al. Icaritin inhibits JAK/STAT3 signaling and growth of renal cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12):e81657. doi: 10.1371/journal.pone.0081657.
- [21] van Kester MS, Out-Luiting JJ, von dem Borne PA, et al. cucurbitacin I inhibits STAT3 and induces apoptosis in Sézary cells[J]. *J Invest Dermatol*, 2008, 128(7):1691–1695. doi: 10.1038/sj.jid.5701246.
- [22] Koukos G, Polytarchou C, Kaplan JL, et al. MicroRNA-124 regulates STAT3 expression and is down-regulated in colon tissues

- of pediatric patients with ulcerative colitis[J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(4):842–852. doi: 10.1053/j.gastro.2013.07.001.
- [23] Timofeeva OA, Chasovskikh S, Lonskaya I, et al. Mechanisms of unphosphorylated STAT3 transcription factor binding to DNA. [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(17):14192–14200. doi: 10.1074/jbc.M111.323899.
- [24] Peña G, Cai B, Liu J, et al. Unphosphorylated STAT3 modulates alpha 7 nicotinic receptor signaling and cytokine production in sepsis [J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(9):2580–2589. doi: 10.1002/eji.201040540.
- [25] Su Y, Li G, Zhang X, et al. JSI-124 inhibits glioblastoma multiforme cell proliferation through G(2)/M cell cycle arrest and apoptosis augment[J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(8):1243–1249.
- [26] Ku JM, Kim SR, Hong SH, et al. cucurbitacin D induces cell cycle arrest and apoptosis by inhibiting STAT3 and NF- $\kappa$ B signaling in doxorubicin-resistant human breast carcinoma (MCF7/ADR) cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 409(1/2):33–43. doi: 10.1007/s11010-015-2509-9.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 王成志, 彭元亮, 史夏青, 等. 葫芦素 I 对肝癌细胞生长的抑制作用及其与 STAT3 通路相关抗凋亡因子的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2018, 27(1):61–67. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.01.010

**Cite this article as:** Wang CZ, Peng YL, Shi XQ, et al. Inhibitory effect of cucurbitacin I on hepatocellular carcinoma cells and its relation with anti-apoptotic factors related to STAT3 signaling pathway[J]. *Chin J Gen Surg*, 2018, 27(1):61–67. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.01.010

## 本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计研究设计: 应交代统计研究设计的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究); 实验设计(应交代具体的设计类型, 如自身配对设计、成组设计、交叉设计、正交设计等); 临床试验设计(应交代属于第几期临床试验, 采用了何种盲法措施等)。主要做法应围绕 4 个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明, 尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述: 用  $\bar{x} \pm s$  表达近似服从正态分布的定量资料, 用  $M(QR)$  表达呈偏态分布的定量资料; 用统计表时, 要合理安排纵横标目, 并将数据的含义表达清楚; 用统计图时, 所用统计图的类型应与资料性质相匹配, 并使数轴上刻度值的标法符合数学原则; 用相对数时, 分母不宜小于 20, 要注意区分百分率与百分比。

3. 统计分析方法的选择: 对于定量资料, 应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的, 选用合适的统计分析方法, 不应盲目套用  $t$  检验和单因素方差分析; 对于定性资料, 应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备条件以分析目的, 选用合适的统计分析方法, 不应盲目套用  $\chi^2$  检验。对于回归分析, 应结合专业知识和散布图, 选用合适的回归类型, 不应盲目套用简单直线回归分析, 对具有重复实验数据的回归分析资料, 不应简单化处理; 对于多因素、多指标资料, 要在一元分析的基础上, 尽可能运用多元统计分析方法, 以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。

4. 统计结果的解释和表达: 当  $P < 0.05$  (或  $P < 0.01$ ) 时, 应说明对比组之间的差异有统计学意义, 而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别; 应写明所用统计分析方法的具体名称(如: 成组设计资料的  $t$  检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的  $q$  检验等), 统计量的具体值(如  $t=3.45$ ,  $\chi^2=4.68$ ,  $F=6.79$  等)应可能给出具体的  $P$  值(如  $P=0.0238$ ); 当涉及到总体参数(如总体均数、总体率等)时, 在给出显著性检验结果的同时, 再给出 95% 置信区间。

中国普通外科杂志编辑部