

DOI: 10.13376/j.cbbs/20250131

文章编号: 1004-0374(2025)10-1360-12

GLUL在肝细胞癌耐药机制中的研究进展

韩卓卓^{1,2}, 汪浩³, 赵健^{1,2*}

(1 上海中医药大学, 上海 201203; 2 上海健康医学院, 上海市分子影像学重点实验室, 上海 201318; 3 北部战区空军医院肿瘤科, 沈阳 110042)

摘要: 肝细胞癌(HCC)是全球最常见的原发性肝癌类型, 耐药问题严重影响治疗效果与患者预后。谷氨酰胺合成酶(GLUL)作为谷氨酰胺代谢的限速酶, 在HCC中高表达, 参与调控肿瘤细胞的代谢重编程、信号通路激活和免疫逃逸等多种过程, 是耐药机制中的关键节点。GLUL通过mTOR、Wnt/ β -catenin等信号通路增强HCC细胞的治疗适应性与生存能力。本文系统综述了GLUL在HCC中的表达特征、生物学功能及其与耐药机制的关联, 提出其作为治疗靶点的潜力, 并探讨了冬凌草、苦参、鸦胆子等天然产物在联合干预GLUL通路中的应用前景, 旨在为HCC耐药的精准治疗提供新靶点与策略依据。

关键词: 肝细胞癌; 谷氨酰胺合成酶; 代谢重编程; 耐药机制; 天然产物联合治疗

中图分类号: R735.7 文献标志码: A

Research progress on GLUL in drug resistance mechanisms of hepatocellular carcinoma

HAN Zhuo-Zhuo^{1,2}, WANG Hao³, ZHAO Jian^{1,2*}

(1 Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2 Shanghai Key Laboratory of Molecular Imaging, Shanghai University of Medicine and Health Sciences, Shanghai 201318, China; 3 Department of Oncology, The Air Force Hospital of Northern Theater PLA, Shenyang 110042, China)

Abstract: Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common type of primary liver cancers worldwide, and drug resistance significantly affects treatment outcomes and patient prognosis. Glutamine synthetase (GLUL), a rate-limiting enzyme in glutamine metabolism, is highly expressed in HCC and plays a crucial role in regulating metabolic reprogramming, signaling pathway activation, and immune evasion in tumor cells. GLUL enhances the therapeutic adaptability and survival of HCC cells through signaling pathways such as mTOR and Wnt/ β -catenin, making it a key player in drug resistance mechanisms. This article provides a comprehensive review of the expression patterns, and biological functions of GLUL, and its role in drug resistance in HCC, highlighting its potential as a therapeutic target. Additionally, the article explores the prospects of natural compounds such as *Rabdosia rubescens* (*Donglingcao*), *Sophora flavescens* (*Kushen*), and *Brucea javanica* (*Yadanzi*) in combination therapies targeting GLUL pathways, aiming to offer new targets and strategic insights for precision treatment of drug-resistant HCC.

Key words: hepatocellular carcinoma; glutamine synthetase; metabolic reprogramming; drug resistance mechanisms; combination therapy with natural products

收稿日期: 2025-05-13; 修回日期: 2025-06-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(81972252); 国家重点研发计划(2020YFA0909000); 上海市分子影像学重点实验室建设项目(18DZ2260400); 上海市自然科学基金面上项目(22ZR1428000); 上海市卫生健康委员会临床专项面上项目(202040382)

*通信作者: E-mail: zhaoj_24@sumhs.edu.cn

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的原发性肝癌类型, 约占原发性肝癌的 75%~90%, 其高发病率和高死亡率使其成为全球公共健康的重大挑战^[1-4]。流行病学数据显示, HCC 是全球第六大常见癌症和第三大癌症死因, 预计到 2030 年或将上升至第二位^[2]。尽管早期 HCC 可通过手术切除、射频消融或肝移植等方式治疗, 但由于其早期症状隐匿, 绝大多数患者确诊时已处于中晚期^[2]。当前针对晚期 HCC 的标准治疗主要包括多靶点酪氨酸激酶抑制剂 (如索拉非尼、乐伐替尼) 及免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICIs)^[5-6], 但实际临床效果常受个体差异、毒副作用及获得性耐药等问题限制, 导致客观缓解率偏低、预后不良^[7]。在多种耐药机制中, 肿瘤代谢重编程引发广泛关注, 尤以谷氨酰胺代谢依赖性增强为代表^[8-9]。谷氨酰胺不仅作为合成蛋白质与核苷酸的基础原料, 还在能量代谢、氧化还原稳态维持及信号转导中发挥关键作用, 是肿瘤细胞维持高增殖活性的核心代谢底物。谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthetase, GLUL) 作为合成谷氨酰胺的限速酶, 在 HCC 中高表达, 已被证实与肿瘤的增殖、侵袭及免疫逃逸密切相关^[10-11]。更重要的是, GLUL 可能通过调控代谢通路及免疫微环境, 参与 HCC 的耐药过程, 具有成为潜在治疗靶点的研究价值^[12]。因此, 系统探讨 GLUL 在 HCC 中的表达特征、生物学功能及其在耐药调控中的具体机制, 有望为 HCC 的精准治疗提供理论依据与新的干预策略。

1 GLUL的生物学功能与在肿瘤中的作用

在肿瘤的发生发展过程中, 细胞代谢途径常常发生深刻的重塑, 以满足快速增殖、环境适应及逃避免疫监视等需求^[9, 13]。谷氨酰胺作为肿瘤细胞重要的营养与信号分子, 其代谢途径逐渐成为肿瘤代谢重编程的研究焦点。GLUL 作为催化谷氨酸和氨生成谷氨酰胺的关键酶, 不仅参与细胞内谷氨酰胺水平的维持, 还在调控肿瘤细胞增殖、存活、迁移以及免疫逃逸等方面发挥多重作用^[14, 15]。GLUL 的异常表达被发现与多种实体瘤的恶性表型、预后及药物耐受性密切相关, 提示其可能作为肿瘤治疗的重要靶点。

1.1 GLUL的结构与功能简介

GLUL 是一种高度保守、ATP 依赖性的限速酶, 催化谷氨酸与氨结合生成谷氨酰胺^[14-16]。其活性中心具有高度特异性, 通常以十二聚体形式存在于胞

质中, 在氮代谢、氨清除及细胞内稳态维持等方面发挥关键作用。GLUL 广泛分布于肝、脑、肺等器官, 尤其在肝脏中, 其在清除氨、维持体内氨稳态方面尤为重要。当体内氨浓度升高时, GLUL 可迅速催化其生成无毒的谷氨酰胺, 有效缓解氨毒性^[5, 17]。此外, 谷氨酰胺不仅是核苷酸、非必需氨基酸和脂类合成的重要前体, 还参与调控细胞生长、应激应答和免疫功能, 是维持细胞增殖与分化不可或缺的营养因子^[9, 13-15]。

1.2 谷氨酰胺在癌细胞中的代谢重编程作用

为满足快速增殖的代谢需求, 肿瘤细胞常发生代谢重编程, 其中谷氨酰胺代谢是核心组成之一^[9]。谷氨酰胺不仅为肿瘤细胞提供碳源与氮源, 还广泛参与三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle, TCA)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 合成、脂质合成及嘧啶合成等多条关键代谢通路, 从而支撑其高强度的生物合成与抗氧化能力^[13]。在肝癌、乳腺癌、肺癌、胰腺癌等多种实体瘤中, 谷氨酰胺的摄取和利用显著增强, 这种高度依赖谷氨酰胺的“成瘾”特征, 已成为肿瘤细胞代谢重塑的重要标志之一。GLUL 通过促进谷氨酰胺的内源性合成, 使肿瘤细胞即便在外源谷氨酰胺匮乏的环境下, 仍能维持其对谷氨酰胺的代谢依赖, 从而增强其存活能力并促进耐药性^[18]。此外, 谷氨酰胺代谢还能调控 mTOR 及 PI3K/Akt 等关键信号通路, 影响细胞增殖、周期调控及抗凋亡能力^[19, 20]。由此可见, GLUL 不仅作为谷氨酰胺代谢的限速酶, 在维持肿瘤细胞代谢稳态中发挥核心作用, 更通过与信号通路的交互调控, 在癌症进展与治疗抵抗中扮演着远超传统代谢酶的多重功能。

1.3 GLUL在多种肿瘤中的表达及功能

GLUL 的异常高表达已在多种实体瘤中被广泛报道, 显示了其作为代谢调控因子在肿瘤发生发展中的关键作用。以 HCC 为例, GLUL 在 HCC 组织中显著上调, 其高表达与患者的不良预后密切相关^[11, 21]。GLUL 的上调不仅增强肿瘤细胞对谷氨酰胺的代谢依赖, 还可激活 Wnt/ β -catenin 等促增殖信号通路, 推动肿瘤进展^[11]。在乳腺癌中, GLUL 同样呈高表达状态, 其通过提升细胞内谷氨酰胺合成能力, 维持抗氧化系统活性, 从而增强肿瘤细胞对氧化应激的耐受, 提高放疗和化疗抗性^[22]。类似现象亦见于结直肠癌、肾透明细胞癌等多种癌种, 提示 GLUL 可能作为一种广谱性的代谢驱动因子与潜在治疗靶点^[14]。此外, GLUL 表达水平与肿瘤组织

的分化程度、侵袭性及转移潜力呈正相关,在具有干细胞样特征的肿瘤细胞中也常高表达,可能与肿瘤复发和获得性耐药密切相关^[10, 23]。这些发现共同揭示了 GLUL 在多种实体瘤中发挥促进作用,进一步凸显其作为肿瘤精准治疗靶点的潜力和研究价值。

1.4 肿瘤微环境中GLUL与细胞增殖、迁移、侵袭和存活的关系

肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 作为肿瘤发生发展及治疗响应的关键调控因素,其复杂的细胞与分子互作网络在肿瘤生物学中发挥核心作用。GLUL 在 TME 中的功能不仅局限于调控肿瘤细胞自身的代谢与信号活动,还通过影响代谢底物(如谷氨酰胺)和信号分子的浓度,间接调控免疫细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞等多种微环境组分的功能状态^[24]。GLUL 高表达可促进谷氨酰胺生成,从而激活 mTOR、Wnt/ β -catenin 等促增殖通路,增强肿瘤细胞的增殖能力,并通过调控上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程,提高其迁移与侵袭潜能^[25]。此外, GLUL 还可降低肿瘤细胞对氧化应激的敏感性,延缓凋亡进程,使其在缺氧、营养缺乏等胁迫条件下仍具备较强的存活能力^[26]。更为关键的是, GLUL 相关代谢产物可通过影响免疫细胞功能进一步重塑 TME,例如通过消耗局部谷氨酰胺抑制 T 细胞活化,诱导髓源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 和 M2 型巨噬细胞的富集与免疫抑制表型,从而促进肿瘤的免疫逃逸^[27, 28]。综上所述, GLUL 不仅是一种关键代谢酶,更是介导肿瘤细胞代谢与 TME 互作的枢纽分子,其在调控肿瘤生存优势及免疫抑制中的作用值得深入探讨。

2 GLUL在HCC中的表达与功能

GLUL 在多种实体瘤中普遍高表达, HCC 作为一种以代谢重塑为特征的肿瘤,其对谷氨酰胺的依赖性尤为突出。GLUL 不仅在 HCC 中呈现出显著的上调趋势,还与临床指标如预后、分化程度及复发风险密切相关。揭示其在 HCC 中的表达模式、信号通路交互及适应机制,将有助于厘清其在 HCC 恶性进展中的关键角色,推动代谢靶点向精准治疗的转化应用。

2.1 HCC中GLUL的表达水平变化

肝脏作为机体最重要的代谢器官之一,其高度分化的结构造就了功能上的显著空间异质性。沿门静脉至中央静脉的血流梯度,肝细胞被划分为不同

的功能区带,各区在氮代谢、糖代谢和脂质代谢等方面具有特异性分工^[29]。GLUL 作为关键氮代谢酶之一,正体现了这种代谢区域性的空间特征。在正常肝组织中, GLUL 主要局限表达于肝小叶中央静脉周围区域,负责将氨与谷氨酸合成为谷氨酰胺,进而实现对氨的清除与氮代谢平衡的维持^[30]。然而在肝脏疾病,尤其是 HCC 中, GLUL 的表达模式发生显著改变:由正常肝组织中的区域性表达转变为肿瘤组织中的广泛高表达。这种表达分布的改变反映了 HCC 在代谢重编程过程中对氮源与谷氨酰胺依赖性的显著增强,是其适应肿瘤细胞快速增殖和应对恶劣微环境的关键代谢策略之一。空间转录组学研究进一步揭示了 GLUL 与肿瘤代谢异质性的紧密关联,例如 Hakvoort 等^[3]在小鼠模型中的研究显示, GLUL 在正常肝中表现出高度区域化分布,而在 HCC 组织中则呈弥散性高表达。多个独立研究也证实了 GLUL 在 HCC 中的高表达特征,无论是在 mRNA 层面还是蛋白层面,均显著高于配对的正常肝组织^[31, 32]。qRT-PCR 检测表明 HCC 组织中 GLUL 转录水平显著升高, Western blot 与免疫组化进一步显示其在 HCC 组织中呈强阳性表达,广泛分布于肿瘤细胞内,而正常肝组织中则仅在中央静脉周围的少数肝细胞中可见弱表达^[32, 33]。这种由局部到广泛的表达模式转变,不仅提示 GLUL 可能在 HCC 的发生发展过程中发挥推动作用,也揭示其作为一种肿瘤特异性代谢重编程分子,为肿瘤细胞提供持续的代谢支持,具有重要的研究和临床转化价值^[24]。

2.2 GLUL与HCC患者预后之间的关联

临床研究表明, GLUL 的表达水平与 HCC 患者的预后密切相关,具有重要的临床评估价值^[10]。多项随访表明, GLUL 高表达患者的总生存率 (overall survival, OS) 和无病生存率 (disease-free survival, DFS) 显著低于低表达患者,术后 5 年内的复发率也明显升高,而低表达组患者则更易维持长期的无瘤生存状态^[11, 33]。多因素回归分析进一步确认, GLUL 高表达是影响 HCC 患者预后的独立危险因素^[10]。机制研究认为, GLUL 可能通过促进谷氨酰胺代谢,增强肿瘤细胞的增殖能力、抗凋亡能力及治疗耐受性,从而推动肿瘤进展并导致不良的临床结局。

2.3 GLUL参与的信号通路与生物学过程

GLUL 在 HCC 中作为关键代谢酶,深度参与多条信号通路的调控,展现出其作为代谢枢纽与信号放大器的双重功能。其合成的谷氨酰胺不仅为

mTOR 通路提供关键的碳氮源和能量基础, 促进细胞增殖与蛋白质合成, 还通过形成正反馈环路增强 GLUL 自身的翻译效率, 从而提升 HCC 细胞在营养缺乏及药物胁迫下的代谢适应性^[8, 20, 34]。此外, GLUL 也是 Wnt/ β -catenin 通路的下游靶基因之一, Wnt 信号激活可通过 β -catenin 上调其表达, 增强谷氨酰胺合成, 进而通过代谢重塑持续激活 Wnt 通路, 促进上皮-间质转化及肿瘤干性特征的维持, 增强细胞迁移与侵袭能力^[21, 25, 35, 36]。同时, GLUL 亦受 MYC 信号轴调控, MYC 可直接转录激活 GLUL 以支持核酸与蛋白质合成所需的谷氨酰胺代谢, 而 GLUL 的高表达又反向促进 MYC 通路活性, 构成代谢与转录的协同促进机制, 推动 HCC 的恶性进展^[18, 37, 38]。综上, GLUL 通过介入代谢调节与信号转导双重路径, 参与细胞命运调控、表型转化及耐药形成等关键过程, 成为 HCC 中重要的治疗靶点候选分子。

2.4 GLUL与HCC细胞对氧化应激、营养缺乏等应激反应的适应机制

在 HCC 的微环境中, 肿瘤细胞常面临低氧、氧化应激及营养缺乏等多重应激挑战, 而 GLUL 的高表达被证实有助于增强细胞的适应能力^[25]。在氧化应激条件下, GLUL 可迅速上调以合成谷氨酰胺, 为谷胱甘肽的合成提供谷氨酸前体, 显著提升细胞的抗氧化能力^[13]。谷胱甘肽作为细胞内主要的抗氧化剂之一, 能有效清除活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 维持氧化还原稳态, 从而保护 HCC 细胞免受氧化损伤^[39]。在营养匮乏或外源谷氨酰胺不足的环境中, GLUL 通过合成内源性谷氨酰胺, 赋予细胞“代谢自主性”, 显著提升其在恶劣微环境下的生存能力^[8, 40]。此外, GLUL 还可通过代谢调控影响免疫微环境, 如促进 M2 型肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophages, TAM) 极化、抑制 CD8⁺ T 细胞功能, 进而增强肿瘤的免疫逃逸能力^[28, 41]。上述机制表明, GLUL 不仅在氧化与营养应激下提供代谢支持, 还通过调控免疫微环境助力 HCC 细胞应对复杂的肿瘤生态系统。

2.5 GLUL高表达的分子调控机制

尽管 GLUL 在 HCC 中的高表达已被广泛报道, 其具体的上游调控机制仍在不断被揭示。GLUL 的表达受多种转录因子、非编码 RNA 以及表观遗传机制的共同调控。首先, 在信号通路调控方面, Wnt/ β -catenin 和 MYC 不仅是 GLUL 功能的下游通路, 同时也可直接介入其转录调控过程。Wnt 信号

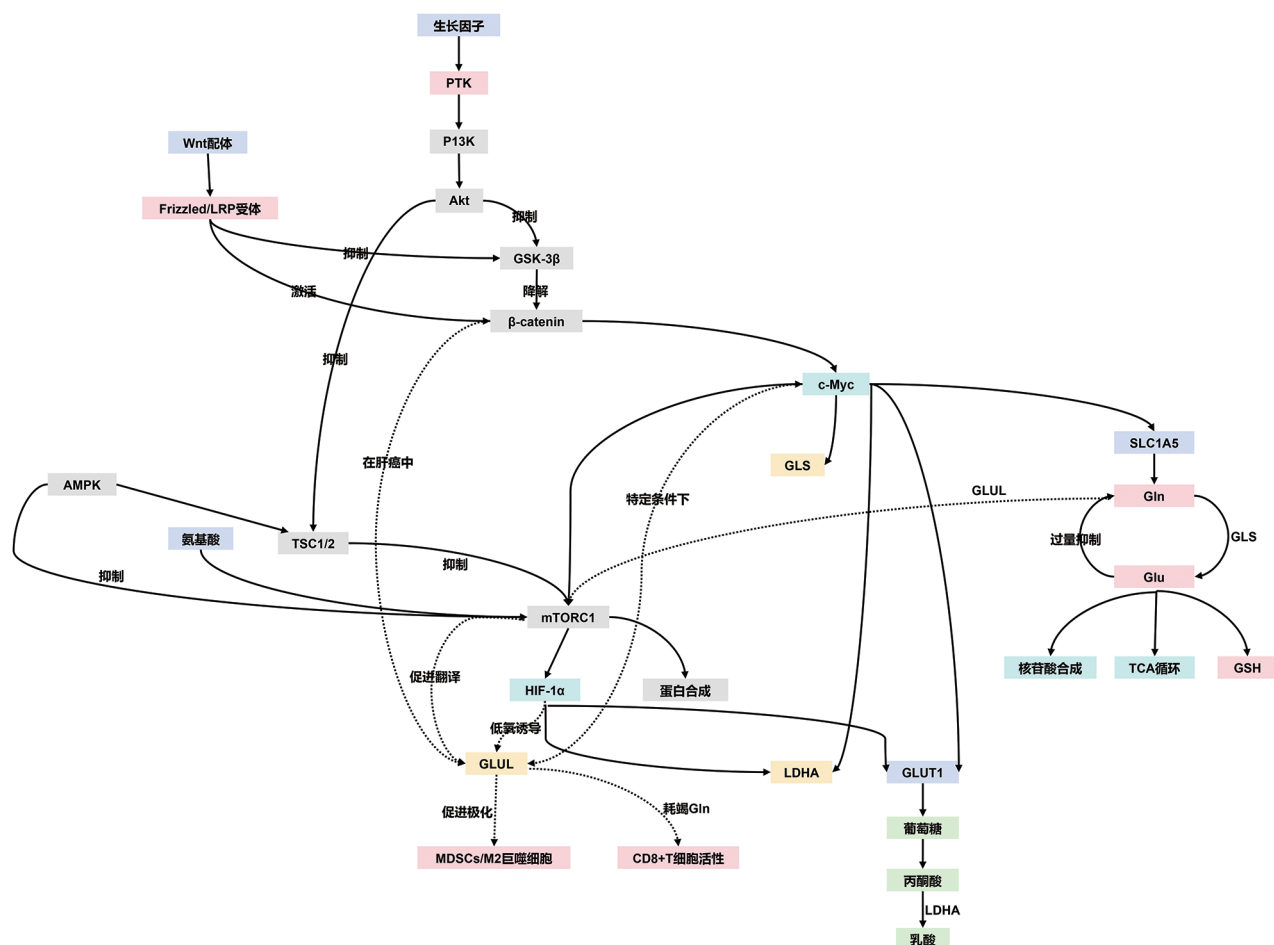
激活后, β -catenin 可与 Tcf/Lef 复合物结合并定位至 GLUL 启动子区, 促进其表达; MYC 作为经典致癌因子, 可直接结合 GLUL 启动子调控元件, 从而增强其转录水平, 推动肿瘤细胞对谷氨酰胺的代谢依赖性增强^[21, 37]。其次, 在低氧微环境中, 低氧诱导因子 HIF-1 α 的激活也可促进 GLUL 的表达, 其通过结合 GLUL 启动子序列, 增强 GLUL 在缺氧条件下的转录水平, 以满足肿瘤细胞对能量与代谢物的需求^[42]。在非编码 RNA 层面, miR-122 等 microRNA 在 HCC 中显著下调, 解除对 GLUL mRNA 的抑制作用, 促使 GLUL 稳定表达并维持高水平, 该机制在多个 HCC 耐药模型中已被验证^[43]。此外, 表观遗传修饰如 GLUL 启动子区域的低甲基化状态以及组蛋白乙酰化水平的升高, 也被认为是其表达持续活跃的重要机制之一。综上所述, GLUL 在 HCC 中的高表达是多条转录调控路径、非编码 RNA 网络及表观遗传机制协同作用的结果, 反映了 HCC 对谷氨酰胺代谢高度依赖的本质特征, 也为其靶向干预提供了新的分子靶点与研究方向。

3 GLUL与HCC耐药的关联机制

耐药性是当前 HCC 治疗的主要障碍之一, 涉及代谢重编程、信号通路重塑及免疫微环境改变等多重机制。作为代谢调控的核心酶, GLUL 在多种耐药 HCC 模型中持续高表达, 并在多个层面上赋予肿瘤细胞更强的生存优势和治疗逃逸能力 (图 1)。系统解析 GLUL 在 HCC 耐药形成中的调控网络与机制, 有望为耐药逆转和联合治疗策略提供新的突破口与理论依据。

3.1 靶向药物耐药的分子机制概述

在晚期 HCC 的治疗中, 靶向药物如索拉非尼 (Sorafenib)、仑伐替尼 (Lenvatinib) 以及多种免疫检查点抑制剂已被广泛应用于一线或二线方案, 然而其疗效常受获得性耐药限制^[42, 44]。肿瘤细胞可通过激活替代信号通路 (如 PI3K/Akt、MAPK、mTOR 和 Wnt/ β -catenin 等)、增强抗氧化和抗凋亡能力、增加药物外排以及重塑肿瘤免疫微环境等方式实现治疗逃逸, 进而降低药物响应率并促进复发^[45, 46]。此外, 肿瘤干细胞样细胞的富集以及上皮-间质转化等表型可塑性变化也被认为是耐药形成的重要机制^[47]。近年来, 肿瘤代谢重编程被认为是理解 HCC 耐药性的关键切入点, 其中谷氨酰胺代谢异常及其关键酶 GLUL 在调控肿瘤细胞适应代谢压力、维持存活与获得药物耐受性中发挥重要作用^[10]。



GLUL作为谷氨酰胺代谢的关键酶，在HCC中高表达，参与调控mTOR、PI3K/Akt、Wnt/β-catenin、c-Myc和HIF-1α等信号通路，促进肿瘤细胞的代谢重编程和免疫逃逸，从而增强对靶向药和免疫治疗的耐受性。图中展示了GLUL通过调节谷氨酰胺代谢、氧化还原稳态及免疫微环境，在HCC耐药中的作用机制。

图1 GLUL在肝细胞癌中介导的代谢-信号-免疫网络机制示意图

3.2 GLUL在HCC耐药细胞中的表达及其调控机制

GLUL在多种耐药性HCC细胞株中高表达，尤其在索拉非尼和仑伐替尼耐药模型中，其mRNA和蛋白水平均显著升高^[48]。耐药HCC细胞常伴随对外源谷氨酰胺依赖性的降低，提示其通过增强GLUL介导的内源性谷氨酰胺合成，获得代谢上的适应性优势^[8]。GLUL的高表达受多种信号通路和转录因子的调控：在耐药状态下，mTOR与HIF-1α信号通路被激活，HIF-1α可直接结合GLUL启动子区域，促进其转录^[42]；此外，抑制性miRNA(如miR-122)的下调亦可解除对GLUL的转录抑制，进一步增强其表达^[43]。这种由代谢重编程驱动的GLUL持续上调，赋予肿瘤细胞在药物压力下的生存优势，奠定了其在HCC耐药性形成中的核心地位。

3.3 GLUL促进耐药性的可能机制

在HCC中，GLUL的持续高表达与多重耐药

机制密切相关，构建了一个以代谢适应为基础、信号通路协同激活为支撑、微环境调控为保障的“耐药网络”。GLUL通过提升肿瘤细胞对不良环境的适应能力，增强抗凋亡性与生存优势，并影响药物外排、干性维持等关键环节，在靶向药物和免疫治疗中均显示出重要的耐药促进作用。

3.3.1 代谢适应与抗凋亡

GLUL通过提升谷氨酰胺的内源性合成能力，确保肿瘤细胞在缺氧、营养匮乏或药物胁迫环境下依然能够维持三羧酸循环和谷胱甘肽合成，进而支撑细胞的能量供应与抗氧化防御系统。这一代谢适应性不仅有效抵御化疗或靶向药物诱导的氧化应激，还通过线粒体介导的途径抑制细胞凋亡，从而赋予肿瘤细胞较强的存活优势^[26, 49]。值得注意的是，GLUL通过维持细胞的代谢稳态，使肿瘤细胞能够在药物治疗下生存更长时间，从而增加耐药性的形

成概率。

3.3.2 激活细胞保护性信号通路

GLUL 通过对谷氨酰胺代谢的调节, 激活多条关键的促存活信号通路, 包括 PI3K/Akt、mTOR 与 Wnt/ β -catenin 等^[50]。这些信号通路不仅促进细胞增殖、抑制凋亡, 还通过调控自噬和 DNA 损伤修复等过程, 显著增强肿瘤细胞对药物的耐受性^[51]。GLUL 的高表达通过调节细胞内代谢物的浓度, 进一步调控细胞内的 pH、氧化还原状态等微环境因素, 稳定细胞的内环境, 并防止药物引发的应激反应过度导致细胞死亡^[49]。这些调控机制共同作用, 显著增强了肿瘤细胞的抗药性和耐药性。

3.3.3 GLUL介导的耐药相关表型调控

GLUL 在 HCC 耐药机制中的作用不仅限于代谢调控, 还通过多种机制调节肿瘤细胞的耐药相关表型。一方面, GLUL 高表达与 ATP 结合转运体 (ATP-binding cassette, ABC) 家族成员如 ABCB1 (P-gp)、ABCG2 等的表达密切相关, 其通过增强细胞的能量代谢水平, 为这些依赖 ATP 的药物外排泵提供充足能量, 从而促进药物的主动外排, 降低细胞内药物积聚, 形成典型的“药物泵”型耐药机制^[52, 53]。此外, 谷氨酰胺代谢还可能通过表观遗传调控间接促进 ABC 转运蛋白基因的表达, 加剧细胞对化疗药物的耐受性^[54]。另一方面, GLUL 在维持肿瘤干细胞样表型方面也发挥关键作用, 其高表达可增强 HCC 细胞的自我更新能力和化疗耐受性, 使其更易逃避药物诱导的细胞毒作用^[55]。研究表明, GLUL 可通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 维持 CD133、Nanog、OCT4 等肿瘤干细胞标志基因的表达, 使肿瘤细胞在化疗后更容易残留并导致复发^[56]。此外, 肿瘤干细胞群体通常具有较强的 DNA 修复能力和低增殖状态, 这也使 GLUL 高表达细胞对化疗和靶向药物更加不敏感^[51]。综上所述, GLUL 通过促进药物外排与维持肿瘤干细胞样特性协同调控 HCC 的耐药表型, 成为潜在的抗耐药治疗关键靶点。

4 靶向GLUL的潜力及联合治疗策略

随着对肿瘤代谢脆弱性的深入挖掘, GLUL 作为谷氨酰胺代谢轴的关键节点, 逐渐成为抗肿瘤治疗的潜在靶点。其在 HCC 中的广谱高表达、对肿瘤生存信号的调节能力及在耐药表型中的驱动作用, 使其具备良好的靶向干预前景。结合小分子抑制、基因干扰及营养限制等多种策略, 靶向 GLUL 有望在现有治疗基础上实现疗效增强与毒性控制的

双重目标, 构建更为精准的个体化治疗路径。

4.1 GLUL作为抗肿瘤靶点的可行性分析

GLUL 作为谷氨酰胺代谢中的关键限速酶, 在维持肿瘤细胞代谢稳态、生长调控以及耐药性形成等方面发挥核心作用。GLUL 在 HCC 中显著高表达, 并与患者的不良预后密切相关^[23]。其异常表达不仅反映出 HCC 对谷氨酰胺代谢的高度依赖, 也提示其可能作为潜在治疗靶点, 具有重要的研究与转化价值^[35]。GLUL 的治疗潜力体现在多个层面: 首先, 其在多种 HCC 亚型及具有耐药特性的细胞中普遍高表达, 展现出良好的广谱性^[12]; 其次, 靶向抑制 GLUL 可显著破坏肿瘤细胞的氧化还原平衡与能量供应, 从而诱导应激性死亡, 对 HCC 细胞形成代谢打击; 更为重要的是, GLUL 在 HCC 组织中的表达水平显著高于正常肝组织, 为靶向干预提供了较理想的选择性治疗窗口^[14]。综上, 从作用机制到表达分布, GLUL 均具备良好的靶向干预基础, 其在 HCC 代谢依赖性与耐药机制中的重要地位, 使其成为代谢精准治疗策略中极具开发潜力的候选靶点。

4.2 已有GLUL抑制剂或代谢干预策略

当前, 针对 GLUL 的小分子抑制剂开发尚处于起步阶段。L-methionine sulfoximine (MSO) 作为经典的 GLUL 酶抑制剂, 具有较强的特异性, 但其显著的神经毒性限制了临床应用前景^[16]。为克服该问题, 研究者正致力于开发结构更优化、选择性更高且毒副作用更低的新一代 GLUL 抑制剂, 并尝试结合纳米递送系统与肿瘤靶向修饰策略, 以提高其治疗指数和组织特异性^[57]。除直接抑制酶活性外, 间接调控 GLUL 表达或功能的策略也不断丰富。例如, 基于 RNA 干扰技术的 siRNA 或 shRNA 在多种 HCC 细胞模型中已被证实可有效下调 GLUL 表达并抑制细胞增殖^[36]; 此外, 通过调节 GLUL 启动子区域的 DNA 甲基化或组蛋白修饰状态, 实现对其转录活性的表观遗传调控, 也为精准干预提供了新思路^[58]。近年来, 营养限制策略亦受到关注, 通过削减外源性谷氨酰胺供应或干扰其合成底物 (如谷氨酸与氨) 的可利用性, 可在不直接抑制酶活性的前提下, 从整体代谢层面削弱肿瘤细胞对谷氨酰胺的依赖性^[59]。综上, 从小分子药物、基因沉默、表观调控到营养干预, 多层次、多维度的靶向策略正为 GLUL 相关治疗研究提供理论基础与实践可能, 为其未来的临床转化奠定了坚实基础。

4.3 联合GLUL抑制与现有HCC治疗的前景

鉴于 GLUL 在 HCC 细胞生存与耐药形成中的关键地位,其靶向抑制在联合治疗策略中展现出显著的协同潜力。研究表明, GLUL 抑制可增强 HCC 细胞对多激酶抑制剂(如仑伐替尼)的敏感性,可能机制包括削弱 PI3K/Akt、mTOR 等耐药相关信号通路的活性,从而增强药物效能与治疗应答效率^[60]。此外, GLUL 介导的谷氨酰胺代谢在调节细胞抗氧化能力中亦起重要作用,其抑制可显著降低细胞内谷胱甘肽水平,增强药物诱导的氧化应激,促进肿瘤细胞凋亡^[61]。GLUL 下调还可能削弱肿瘤干细胞样表型的维持能力,抑制 HCC 细胞的自我更新与复发潜能,从而提升治疗的持久性^[62]。更为重要的是, GLUL 抑制对肿瘤免疫微环境也具有积极影响,如增强 T 细胞效应功能、抑制髓源性抑制性细胞等免疫抑制群体的扩增,从而改善免疫治疗耐受状态,提升免疫检查点抑制剂的应答率^[24, 27]。综上, GLUL 抑制剂在 HCC 治疗中的最优应用策略或在于与其他疗法联合使用,通过在代谢、信号通路及免疫调控等多个维度实现协同干预,发挥“协同增效”作用,为构建精准且高效的联合治疗体系提供坚实基础。

4.4 潜在副作用及靶向代谢通路的挑战

尽管 GLUL 在 HCC 中展现出显著的治疗潜力,其临床转化仍面临诸多挑战。首先, GLUL 在正常肝脏与中枢神经系统中亦发挥重要的生理功能,主要参与氮代谢与神经保护,系统性抑制可能引发代谢紊乱及神经毒性^[35]。其次,肿瘤细胞具备高度的代谢可塑性,即使 GLUL 活性受阻,仍可通过上调谷氨酰胺酶(glutaminase, GLS)等替代代谢通路维持谷氨酰胺代谢,从而减弱靶向抑制效果,限制其作为单一靶点的治疗价值^[40]。此外,靶向 GLUL 的治疗窗口较为狭窄,在有效抑制肿瘤代谢的同时如何避免对正常组织造成损伤,仍是亟待解决的关键问题。广谱性抑制策略往往引发系统性毒性,难以满足精准、安全治疗的要求^[63]。为克服上述局限,未来研究应重点关注高选择性递送系统的开发,如肿瘤特异性纳米载体、配体修饰或智能响应材料,以提高 GLUL 抑制剂在肿瘤组织中的富集效率与治疗指数^[64]。同时,联合免疫治疗、靶向药物或天然产物的多模态治疗策略,有望扩大治疗窗口、增强协同疗效并降低毒副反应,为 GLUL 靶向治疗的临床转化提供切实可行的路径^[65]。

5 天然产物在抗HCC治疗中的作用优势

天然产物在 HCC 治疗中展现出独特优势,首先体现在其多靶点干预能力。与传统单靶向药物不同,天然产物常同时调控细胞增殖、凋亡、转移、代谢和免疫等多个关键环节^[66]。例如,冬凌草可抑制 PI3K/Akt 通路,苦参靶向 Wnt/ β -catenin, 鸦胆子则诱导线粒体通路凋亡,体现出多维抗癌潜力。其次,天然产物大多来源于中药,毒性低、耐受性好,在长期治疗中更具安全性,适合联合使用以提高疗效,减少毒副作用^[67]。此外,这类天然成分还具备调节肿瘤代谢和免疫微环境的能力,可间接影响谷氨酰胺代谢、降低 GLUL 通路活性,并抑制免疫抑制细胞活性,为 HCC 耐药的联合干预提供了新思路^[68]。

5.1 冬凌草

冬凌草(*Rabdosia rubescens*)是传统中药中广泛应用的草本植物,具有清热解毒、消肿散结等功效,其主要活性成分包括黄酮类、多酚类及具有神经保护与抗肿瘤活性的巴利森宁(Huperzine A)等^[69]。这些成分具有多靶点、多通路的药理特性,近年来在 HCC 研究中逐渐受到关注。药理研究表明,冬凌草可通过抑制 PI3K/Akt、mTOR 及 Wnt/ β -catenin 等信号通路,显著抑制 HCC 细胞增殖、诱导凋亡,并降低其迁移与侵袭能力^[70]。其中, PI3K/Akt 和 mTOR 通路是 HCC 细胞增殖与代谢调控的关键,而 Wnt/ β -catenin 信号轴则与肿瘤干性、转移潜能及耐药性形成密切相关^[71]。值得注意的是, Wnt/ β -catenin 通路亦为 GLUL 基因表达的重要上游调控通路,提示冬凌草可能通过间接下调 GLUL 表达,干扰谷氨酰胺代谢通路,从而削弱肿瘤细胞的代谢适应性,为 GLUL 靶向策略提供支持^[72]。此外,冬凌草在 HCC 耐药治疗中表现出显著的增敏潜力,其提取物可增强索拉非尼、仑伐替尼等靶向药物的抗肿瘤效果,逆转耐药表型,提高药物敏感性,其机制可能包括抑制药物外排蛋白表达、干预肿瘤干性因子活性以及调节免疫微环境,增强 T 细胞与 NK 细胞的功能^[73, 74]。目前,冬凌草及其活性成分在体内外实验中已显示出良好的抗肿瘤效果^[74],并有部分临床试验初步验证了其靶向药物联合应用的安全性和潜在疗效,显示可改善生活质量并降低肿瘤标志物水平,但尚缺乏大规模随机对照试验的有力证据^[69]。鉴于其成分复杂、剂量难以标准化、制剂稳定性不足及生物利用度偏低等问题,未来应

结合现代药理学和临床研究, 优化提取与制剂工艺, 明确适应证与给药方案, 推动其在 HCC 综合治疗中的转化应用。

5.2 苦参

苦参 (*Sophora flavescens*) 是传统中医中常用于清热燥湿、杀虫止痒的重要药材, 具有悠久的临床应用历史。其主要活性成分苦参碱 (Matrine) 为四环喹啉类生物碱, 在多种实体瘤中展现出显著的抗肿瘤活性^[75]。药理研究表明, 苦参碱可通过诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期以及抑制肿瘤细胞的迁移与侵袭发挥抗肿瘤作用, 其机制主要涉及抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路、下调 Bcl-2、上调 Bax 和 caspase 等凋亡相关因子, 从而激活程序性死亡通路^[76, 77]。鉴于 Wnt/ β -catenin 通路在 HCC 中不仅调控细胞增殖与分化, 还参与肿瘤干细胞维持及耐药机制, 抑制该通路对治疗具有重要临床意义。苦参碱可增强索拉非尼等靶向药物的抗肿瘤效果, 在多种耐药模型中通过下调 ABC 转运蛋白表达减少药物外排, 同时抑制 CD133、Nanog 等肿瘤干性标志物, 削弱耐药性细胞群体的存活潜能^[78, 79]。Wnt/ β -catenin 信号轴亦为调控 GLUL 表达的重要上游通路之一^[80], 因此苦参碱有可能通过抑制该通路间接下调 GLUL 表达, 干扰 HCC 细胞对谷氨酰胺代谢的依赖, 从代谢层面破坏肿瘤的适应机制, 提升其对治疗的敏感性^[81]。综上, 苦参碱不仅具备独立的抗肿瘤活性, 还可通过影响 GLUL 相关信号与代谢通路增强现有治疗策略的效果, 支持构建中药天然产物与靶向药物协同干预的新型治疗模式。目前, 苦参碱已在部分国家获批用于实体瘤的辅助治疗, 在 HCC 临床应用中显示出延缓病情进展、改善生存期、副作用轻微等优势^[78, 79, 81], 但现有研究多为小样本非随机观察性研究, 缺乏大规模、多中心、双盲随机对照试验的验证。未来应加强对其药代动力学特性、药物相互作用的系统研究, 并优化制剂工艺与靶向递送技术, 以提升其在 HCC 治疗中的应用价值。

5.3 鸦胆子

鸦胆子 (*Brucea javanica*) 是传统中医中常用于治疗疟疾、痢疾及肿瘤的苦寒药物, 其种子提取物鸦胆子油 (*Brucea javanica* oil, BJO) 近年来在抗癌研究中受到广泛关注^[82]。BJO 富含多种苦味四萜类活性成分, 具有诱导肿瘤细胞凋亡、抑制增殖及增强化疗敏感性等多重药理作用, 在 HCC 中展现出良好应用前景^[83]。其主要通过线粒体通路诱导肿瘤细胞凋亡, 具体包括激活 caspase-3/9、促进细胞色

素 c 释放、抑制 Bcl-2 表达, 从而破坏线粒体膜电位, 诱发程序性死亡^[84]。此外, BJO 还可阻断细胞周期、抑制 DNA 合成及血管生成, 对 HCC 的增殖与转移具有多靶点干预效应^[85]。在耐药治疗方面, 鸦胆子表现出显著的抗多药耐药潜力, 其可抑制 ABC 转运蛋白的表达或功能, 减少药物外排, 提高细胞内药物蓄积, 从而逆转耐药表型^[86]; 同时还可下调 CD133 等肿瘤干性相关分子, 降低治疗后肿瘤的再生能力。更值得关注的是, BJO 可能通过调控能量代谢和氧化应激状态, 间接干扰 GLUL 介导的谷氨酰胺代谢通路, 削弱肿瘤细胞在营养匮乏或药物胁迫下对 GLUL 功能的依赖性, 从而提升其对外源治疗的敏感性^[87]。鸦胆子与化疗药物或靶向治疗联合应用已在多项体内外研究中显示出协同抗癌效果, 能够显著抑制肿瘤生长、延缓耐药进展, 并降低治疗相关毒性, 表明其作为天然代谢干预剂在联合治疗策略中具有良好潜力^[88]。在临床层面, BJO 因其抗多药耐药及增敏效应逐步进入研究视野, 已有研究初步证实其与常规化疗或靶向治疗联合应用可延长 HCC 患者的无进展生存期、减轻副作用并提高耐受性^[82-85]。然而, 目前仍缺乏大规模、系统性临床试验以全面评估其疗效与安全性; 同时, 其复杂的成分与潜在毒性也对临床转化提出挑战。未来应依托大数据平台与精准医学策略, 优化用药时机与联合方案, 加强质量控制与毒性监测, 推动 BJO 在 HCC 治疗中的规范化与广泛应用^[86]。

5.4 GLUL抑制剂与天然产物联合的治疗策略

在 HCC 治疗中, GLUL 作为调控肿瘤代谢重编程的核心限速酶, 因其在肿瘤细胞适应性生存与耐药形成中的关键作用, 逐渐成为研究与干预的热点靶点^[89]。尽管直接抑制 GLUL 可有效阻断谷氨酰胺合成通路, 但由于其在正常组织中亦承担重要生理功能, 单一靶向策略常面临疗效受限与毒副作用风险的双重挑战。对此, 联合天然产物所具有的多靶点调控特性, 为增强治疗效果并降低系统毒性提供了新的方向。多项研究表明, 天然产物如冬凌草、苦参与鸦胆子等可通过调控 GLUL 上游的 PI3K/Akt、Wnt/ β -catenin、mTOR 等信号通路间接下调其表达: 冬凌草可抑制 GLUL 的转录激活, 苦参干预 Wnt 介导的表达维持, 而鸦胆子则通过破坏能量代谢稳定性来削弱谷氨酰胺依赖^[82, 90, 91]。这一机制与 GLUL 直接抑制剂构成“上游信号调控+末端代谢封锁”的组合策略, 从多维度切断肿瘤细胞的营养与信号供应, 增强代谢干预效能。此外, 天

然产物还普遍具有诱导凋亡、抑制肿瘤干性、调节免疫微环境等多重作用,可构建“代谢-凋亡-免疫”三位一体的复合干预路径。例如,冬凌草与鸦胆子可增强T细胞效应功能,抑制髓源性抑制性细胞及肿瘤相关巨噬细胞活性,显著提升免疫治疗的应答率^[92]。更重要的是,天然产物普遍毒性较低、耐受性良好,能在不显著增加系统负担的前提下,与GLUL抑制剂实现协同增效与减毒增敏。这一策略不仅有望提高治疗反应率与持续时间,也可能延缓甚至逆转获得性耐药,为HCC的长期控制提供更有效的治疗模式^[68, 93]。综上,GLUL靶向抑制与天然产物联合干预构成机制明确、协同互补的治疗策略,值得在后续基础研究与临床转化中进一步探索与验证。

6 未来展望与挑战

随着对HCC代谢机制认识的不断深入,靶向谷氨酰胺代谢,尤其是以GLUL为核心的代谢调控轴,正逐步成为应对耐药性的关键研究方向。GLUL在HCC细胞中的持续高表达与其在代谢重编程、信号通路激活及免疫逃逸等过程中的多重功能密切相关,为其作为潜在靶点提供了坚实的生物学基础。在此背景下,联合中药天然产物的治疗策略因具备多靶点作用、低毒性和调控代谢-免疫网络的优势,展现出良好的应用前景。目前已有研究表明,冬凌草、苦参、鸦胆子等天然产物不仅可显著抑制HCC细胞增殖与转移,还能通过调节GLUL上游信号通路、干扰谷氨酰胺代谢以及改善肿瘤免疫微环境等机制,增强靶向药物的治疗效果^[94, 95]。特别是在与GLUL抑制剂联合应用时,可形成“信号阻断+代谢干扰”的协同策略,具有显著的增敏作用。然而,GLUL靶向干预在临床转化中仍面临诸多挑战。其在正常肝组织及中枢神经系统中也承担重要的生理功能,系统性抑制可能引发毒副作用,限制其治疗安全窗口^[96];天然产物成分复杂、作用广泛,需依赖高选择性递送系统提升其在肿瘤组织中的富集效率,以降低对正常组织的非特异性损伤^[97]。此外,HCC本身具有高度异质性和代谢可塑性,不同患者对GLUL的依赖程度及天然产物响应存在显著差异^[98],发展基于多组学技术的个体化治疗策略势在必行。通过转录组、代谢组、空间组等技术手段,未来有望构建以GLUL表达特征和代谢表型为基础的患者分型体系,实现更精准的干预和疗效预测。综上所述,GLUL作为代谢与信号交汇的关键枢纽,

在HCC耐药机制研究及治疗干预中具有重要价值。未来研究应聚焦其分子机制的深入解析、联合策略的系统优化以及个体化应用的临床验证,推动其由基础研究向临床实践的有效转化,为破解HCC耐药难题提供可行路径与理论支撑。

7 结论

GLUL作为谷氨酰胺代谢的限速酶,在HCC的代谢重编程、信号通路激活、免疫调控及耐药形成中发挥着关键枢纽作用。其在HCC组织中持续高表达,不仅增强肿瘤细胞的增殖、迁移及抗凋亡能力,还通过介入mTOR、PI3K/Akt、Wnt/ β -catenin等多条关键信号通路,协同提升肿瘤的代谢适应性与多药抗性,从而构建出一个高度耦合的“代谢-信号-免疫”互作网络^[99]。已有研究初步验证了GLUL作为治疗靶点的可行性,尤其是在与多激酶抑制剂(如仑伐替尼)、免疫检查点抑制剂及天然产物(如冬凌草)联合应用中展现出协同抗肿瘤潜力,拓展了其在多模式治疗中的应用前景^[100]。此外,GLUL的表达水平亦具备作为代谢标志物进行预后评估和患者分层管理的潜力,为HCC个体化治疗提供重要依据。尽管如此,GLUL的上游调控机制、组织特异性作用模式及其临床靶向应用的安全性及有效性仍有待深入研究。未来应结合转录组、代谢组、单细胞测序等多组学手段,系统解析GLUL在HCC不同病理阶段及治疗背景下的动态功能特征,并进一步优化其靶向干预策略,推动基础研究向临床转化。随着研究的不断深入,GLUL有望成为破解HCC耐药难题、推进精准治疗的重要突破口。

[参 考 文 献]

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71: 209-49
- [2] Llovet JM, Kelley RK, Villanueva A, et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7: 6
- [3] Hakvoort TB, He Y, Kulik W, et al. Pivotal role of glutamine synthetase in ammonia detoxification. *Hepatology*, 2017, 65: 281-93
- [4] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2018, 69: 182-236
- [5] Kudo M, Finn RS, Qin S, et al. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet*, 2018, 391: 1163-73
- [6] Finn RS, Qin S, Ikeda M, et al. Atezolizumab plus

- bevacizumab in unresectable hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 2020, 382: 1894-905
- [7] Shek D, Read SA, Nagrial A, et al. Immune-checkpoint inhibitors for advanced hepatocellular carcinoma: a synopsis of response rates. *Oncologist*, 2021, 26: e1216-25
- [8] Ye Y, Yu B, Wang H, et al. Glutamine metabolic reprogramming in hepatocellular carcinoma. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1242059
- [9] Jin J, Byun JK, Choi YK, et al. Targeting glutamine metabolism as a therapeutic strategy for cancer. *Exp Mol Med*, 2023, 55: 706-15
- [10] Ying L, Cheng M, Lu Y, et al. Glutamine metabolism scoring predicts prognosis and therapeutic resistance in hepatocellular carcinoma. *Pathol Oncol Res*, 2021, 27: 1610075
- [11] Shao M, Tao Q, Xu Y, et al. Glutamine synthetase-negative hepatocellular carcinoma has better prognosis and response to sorafenib treatment after hepatectomy. *Chin Med J (Engl)*, 2023, 136: 2066-76
- [12] Muthu M, Kumar R, Syed Khaja AS, et al. GLUL ablation can confer drug resistance to cancer cells via a malate-aspartate shuttle-mediated mechanism. *Cancers (Basel)*, 2019, 11: 1945
- [13] Cluntun AA, Lukey MJ, Cerione RA, et al. Glutamine metabolism in cancer: understanding the heterogeneity. *Trends Cancer*, 2017, 3: 169-80
- [14] Kim GW, Lee DH, Jeon YH, et al. Glutamine synthetase as a therapeutic target for cancer treatment. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 1701
- [15] Teeson MCB, Geluz C, Cruz Y, et al. Glutamine synthetase: diverse regulation and functions of an ancient enzyme. *Biochemistry*, 2025, 64: 547-54
- [16] Cooper AJ, Plum F. Biochemistry and physiology of brain ammonia. *Physiol Rev*, 1987, 67: 440-519
- [17] Soria LR, Nitzahn M, De Angelis A, et al. Hepatic glutamine synthetase augmentation enhances ammonia detoxification. *J Inherit Metab Dis*, 2019, 42: 1128-35
- [18] Bott AJ, Peng IC, Fan Y, et al. Oncogenic Myc induces expression of glutamine synthetase through promoter demethylation. *Cell Metab*, 2015, 22: 1068-77
- [19] Nicklin P, Bergman P, Zhang B, et al. Bidirectional transport of amino acids regulates mTOR and autophagy. *Cell*, 2009, 136: 521-34
- [20] Jewell JL, Kim YC, Russell RC, et al. Differential regulation of mTORC1 by leucine and glutamine. *Science*, 2015, 347: 194-8
- [21] Cadoret A, Ovejero C, Terris B, et al. New targets of β -catenin signaling in the liver are involved in the glutamine metabolism. *Oncogene*, 2002, 21: 8293-301
- [22] Bernhardt S, Tönsing C, Mitra D, et al. Functional proteomics of breast cancer metabolism identifies GLUL as responder during hypoxic adaptation. *J Proteome Res*, 2019, 18: 1352-62
- [23] Osada T, Nagashima I, Tsuno NH, et al. Prognostic significance of glutamine synthetase expression in unifocal advanced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2000, 33: 247-53
- [24] Xuan DTM, Wu CC, Wang WJ, et al. Glutamine synthetase regulates the immune microenvironment and cancer development through the inflammatory pathway. *Int J Med Sci*, 2023, 20: 35-49
- [25] Liu P, Lu D, Al-Ameri A, et al. Glutamine synthetase promotes tumor invasion in hepatocellular carcinoma through mediating epithelial-mesenchymal transition. *Hepatol Res*, 2020, 50: 246-57
- [26] Fu S, Li Z, Xiao L, et al. Glutamine synthetase promotes radiation resistance via facilitating nucleotide metabolism and subsequent DNA damage repair. *Cell Rep*, 2019, 28: 1136-44
- [27] Oh MH, Sun IH, Zhao L, et al. Targeting glutamine metabolism enhances tumor-specific immunity by modulating suppressive myeloid cells. *J Clin Invest*, 2020, 130: 3865-84
- [28] Wei J, Yu W, Chen J, et al. Single-cell and spatial analyses reveal the association between gene expression of glutamine synthetase with the immunosuppressive phenotype of APOE+CTSZ+TAM in cancers. *Mol Oncol*, 2023, 17: 611-28
- [29] Kaestner KH. In the zone: how a hepatocyte knows where it is. *Gastroenterology*, 2009, 137: 425-7
- [30] Ma R, Martínez-Ramírez AS, Borders TL, et al. Metabolic and non-metabolic liver zonation is established nonsynchronously and requires sinusoidal Wnts. *Elife*, 2020, 9: e46206
- [31] Pallerla SR, Hoan NX, Rachakonda S, et al. Custom gene expression panel for evaluation of potential molecular markers in hepatocellular carcinoma. *BMC Med Genomics*, 2022, 15: 235
- [32] Wasfy RE, Shams Eldeen AA. Roles of combined glypican-3 and glutamine synthetase in differential diagnosis of hepatocellular lesions. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16: 4769-75
- [33] Dal Bello B, Rosa L, Campanini N, et al. Glutamine synthetase immunostaining correlates with pathologic features of hepatocellular carcinoma and better survival after radiofrequency thermal ablation. *Clin Cancer Res*, 2010, 16: 2157-66
- [34] Dai W, Shen J, Yan J, et al. Glutamine synthetase limits β -catenin-mutated liver cancer growth by maintaining nitrogen homeostasis and suppressing mTORC1. *J Clin Invest*, 2022, 132: e161408
- [35] Ziki RA, Colnot S. Glutamine metabolism, a double agent combating or fuelling hepatocellular carcinoma. *JHEP Rep*, 2024, 6: 101077
- [36] Karimpur-Zahmatkesh A, Khalaj-Kondori M, Hosseinpour-Feizi MA, et al. GLUL gene knockdown and restricted glucose level show synergistic inhibitory effect on the luminal subtype breast cancer MCF7 cells' proliferation and metastasis. *EXCLI J*, 2023, 22: 847-61
- [37] Zhao Y, Wang Y, Miao Z, et al. c-Myc protects hepatocellular carcinoma cell from ferroptosis induced by glutamine deprivation via upregulating GOT1 and Nrf2. *Mol Biol Rep*, 2023, 50: 6627-41

- [38] Mo YS, Rao H, Sheng L, et al. Celecoxib delays development of hepatocellular carcinoma induced by c-Myc in mice through c-Myc and Akt/mTORC1 signaling pathway. *Chin Pharmacol Bull*, 2020, 36: 342-6
- [39] Garnier D, Delphine S, et al. Cancer cells induced to express mesenchymal phenotype release exosome-like extracellular vesicles carrying tissue factor. *J Biol Chem*, 2012, 287: 43565-72
- [40] Dai W, Zong WX. Glutamine synthetase: a tumor suppressor in hepatocellular carcinoma? *J Mol Cell Biol*, 2023, 15: mjad007
- [41] Puthenveetil A, Dubey S. Metabolic reprogramming of tumor-associated macrophages. *Ann Transl Med*, 2020, 8: 1030
- [42] He Q, Guo P, Bo Z, et al. Noncoding RNA-mediated molecular bases of chemotherapy resistance in hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell Int*, 2022, 22: 249
- [43] Vollmann M, Pukrop J, Salewski C. Coping mediates the influence of personality on life satisfaction in patients with rheumatic diseases. *Clin Rheumatol*, 2016, 35: 1093-7
- [44] Ladd AD, Duarte S, Sahin I, et al. Mechanisms of drug resistance in HCC. *Hepatology*, 2024, 79: 926-40
- [45] Xia S, Pan Y, Liang Y, et al. The microenvironmental and metabolic aspects of sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma. *EBioMedicine*, 2020, 51: 102610
- [46] Rascio F, Spadaccino F, Rocchetti MT, et al. The pathogenic role of PI3K/AKT pathway in cancer onset and drug resistance: an updated review. *Cancers (Basel)*, 2021, 13: 3949
- [47] Singh A, Settleman J. EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer. *Oncogene*, 2010, 29: 4741-51
- [48] Okuda K, Umemura A, Kataoka S, et al. Enhanced antitumor effect in liver cancer by amino acid depletion induced oxidative stress. *Front Oncol*, 2021, 11: 758549
- [49] Kim MJ, Choi YK, Park SY, et al. PPAR δ reprograms glutamine metabolism in sorafenib-resistant HCC. *Mol Cancer Res*, 2017, 15: 1230-42
- [50] Ruiz de Galarreta M, Bresnahan E, Molina-Sánchez P, et al. β -Catenin activation promotes immune escape and resistance to anti-PD-1 therapy in hepatocellular carcinoma. *Cancer Discov*, 2019, 9: 1124-41
- [51] Sohn BH, Park IY, Shin JH, et al. Glutamine synthetase mediates sorafenib sensitivity in β -catenin-active hepatocellular carcinoma cells. *Exp Mol Med*, 2018, 50: e421
- [52] Pan Y, Wu M, Cai H. Role of ABCC5 in cancer drug resistance and its potential as a therapeutic target. *Front Cell Dev Biol*, 2024, 12: 1446418
- [53] Feng J, Li J, Wu L, et al. Emerging roles and the regulation of aerobic glycolysis in hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39: 126
- [54] Faramin Lashkarian M, Hashemipour N, Niaraki N, et al. MicroRNA-122 in human cancers: from mechanistic to clinical perspectives. *Cancer Cell Int*, 2023, 23: 29
- [55] Peng H, Yang M, Feng K, et al. Semaphorin 3C (Sema3C) reshapes stromal microenvironment to promote hepatocellular carcinoma progression. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9: 169
- [56] Li B, Cao Y, Meng G, et al. Targeting glutaminase 1 attenuates stemness properties in hepatocellular carcinoma by increasing reactive oxygen species and suppressing Wnt/ β -catenin pathway. *EBioMedicine*, 2019, 39: 239-54
- [57] Zhang C, Liu Z, Wang F, et al. Nanomicelles for GLUT1-targeting hepatocellular carcinoma therapy based on NADPH depletion. *Drug Deliv*, 2023, 30: 2162160
- [58] Li H, Mu H, Xiao Y, et al. Comprehensive analysis of histone modifications in hepatocellular carcinoma reveals different subtypes and key prognostic models. *J Oncol*, 2022, 2022: 5961603
- [59] Furusawa A, Miyamoto M, Takano M, et al. Ovarian cancer therapeutic potential of glutamine depletion based on GS expression. *Carcinogenesis*, 2018, 39: 758-66
- [60] Tang Y, Fan S, Peng R, et al. TRIM29 reverses lenvatinib resistance in liver cancer cells by ubiquitinating and degrading YBX1 to inhibit the PI3K/AKT pathway. *Transl Oncol*, 2025, 53: 102294
- [61] Pacifico F, Leonardi A, Crescenzi E. Glutamine metabolism in cancer stem cells: a complex liaison in the tumor microenvironment. *Int J Mol Sci*, 2023, 24: 2337
- [62] Zhang Q, Li W. Correlation between amino acid metabolism and self-renewal of cancer stem cells: perspectives in cancer therapy. *World J Stem Cells*, 2022, 14: 267-76
- [63] Halama A, Suhre K. Advancing cancer treatment by targeting glutamine metabolism - a roadmap. *Cancers (Basel)*, 2022, 14: 553
- [64] Cheng H, Liao J, Ma Y, et al. Advances in targeted therapy for tumor with nanocarriers: a review. *Mater Today Bio*, 2025, 31: 101583
- [65] Lee SM, Fan W, Wang A, et al. Novel approaches for dynamic visualization of adverse event data in oncology clinical trials: a case study using immunotherapy trial S1400-I (SWOG). *JCO Clin Cancer Inform*, 2023, 7: e2200165
- [66] Xie R, Xu L, Bai Y, et al. New perspectives on chemokines in hepatocellular carcinoma therapy: a critical pathway for natural products regulation of the tumor microenvironment. *Front Immunol*, 2024, 15: 1456405
- [67] Wang Y, Li J, Xia L. Plant-derived natural products and combination therapy in liver cancer. *Front Oncol*, 2023, 13: 1116532
- [68] D'Alessandro N, Poma P, Montalto G. Multifactorial nature of hepatocellular carcinoma drug resistance: could plant polyphenols be helpful? *World J Gastroenterol*, 2007, 13: 2037-43
- [69] Gao S, Li J, Wang W, et al. *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) H. Hara: a potent anti-tumor herbal remedy - Botany, phytochemistry, and clinical applications and insights. *J Ethnopharmacol*, 2025, 340: 119200
- [70] Hu Z, Fang H, Wang X, et al. Overexpression of SHP2 tyrosine phosphatase promotes the tumorigenesis of breast carcinoma. *Oncol Rep*, 2014, 32: 205-12

- [71] Adnan M, Nazim Uddin Chy M, Mostafa Kamal ATM, et al. Evaluation of anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the methanol extract of *Holigarna caustica* (Dennst.) Oken leaves. *J Ethnopharmacol*, 2019, 236: 401-11
- [72] Liu Y, Xu H, Van der Jeught K, et al. Somatic mutation of the cohesin complex subunit confers therapeutic vulnerabilities in cancer. *J Clin Invest*, 2018, 128: 2951-65
- [73] Sun J, Xu W, Hua H, et al. Pharmacodynamic and pharmacokinetic effects of S086, a novel angiotensin receptor neprilysin inhibitor. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129: 110410
- [74] Hwang TL, Chang CH. Oridonin enhances cytotoxic activity of natural killer cells against lung cancer. *Int Immunopharmacol*, 2023, 122: 110669
- [75] An JX, Wang R, Li AP, et al. Prenylated flavonoids isolated from the root of *Sophora flavescens* as potent antifungal agents against *Botrytis cinerea*. *J Agric Food Chem*, 2024, 72: 19618-28
- [76] Cai M, Li G, Tao K, et al. Maohuoside A acts in a BMP-dependent manner during osteogenesis. *Phytother Res*, 2013, 27: 1179-84
- [77] Wang J, Xue H, Zhu Z, et al. Expression of serum exosomal miR-23b-3p in non-small cell lung cancer and its diagnostic efficacy. *Oncol Lett*, 2020, 20: 30
- [78] Gao L, Morine Y, Yamada S, et al. Nrf2 signaling promotes cancer stemness, migration, and expression of ABC transporter genes in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One*, 2021, 16: e0256755
- [79] Chow AK, Ng L, Lam CS, et al. The enhanced metastatic potential of hepatocellular carcinoma (HCC) cells with sorafenib resistance. *PLoS One*, 2013, 8: e78675
- [80] Gajos-Michniewicz A, Czyz M. WNT/ β -catenin signaling in hepatocellular carcinoma: the aberrant activation, pathogenic roles, and therapeutic opportunities. *Genes Dis*, 2023, 11: 727-46
- [81] Shi J, Zhang H, Han G, et al. Matrine improves the hepatic microenvironment and reverses epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma by inhibiting the Wnt-1/ β -catenin signaling pathway. *Am J Transl Res*, 2023, 15: 5047-70
- [82] Chen J, Yu D, Li X, et al. A review of *Brucea javanica*: metabolites, pharmacology and clinical application. *Front Pharmacol*, 2024, 14: 1317620
- [83] Zhang J, Xu HX, Dou YX, et al. Major constituents from *Brucea javanica* and their pharmacological actions. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 853119
- [84] Wang T, Dou Y, Lin G, et al. The anti-hepatocellular carcinoma effect of *Brucea javanica* oil in ascitic tumor-bearing mice: the detection of brusatol and its role. *Biomed Pharmacother*, 2021, 134: 111122
- [85] Yue Y, Yang Y, Shi L, et al. Suppression of human hepatocellular cancer cell proliferation by *Brucea javanica* oil-loaded liposomes via induction of apoptosis. *Arch Med Sci*, 2015, 11: 856-62
- [86] Yan G, Xiao Q, Zhao J, et al. *Brucea javanica* derived exosome-like nanovesicles deliver miRNAs for cancer therapy. *J Control Release*, 2024, 367: 425-40
- [87] Lai Y, Li M, Zhan J, et al. *Brucea javanica* oil inhibited the proliferation, migration, and invasion of oral squamous carcinoma by regulated the MTR2 pathway. *Front Oncol*, 2025, 14: 1477293
- [88] Yang H, Tong Z, Shen L, et al. *Brucea javanica* increases survival and enhances gemcitabine efficacy in a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) mouse model of pancreatic cancer. *Anticancer Res*, 2020, 40: 4969-78
- [89] Chiu M, Tardito S, Pillozzi S, et al. Glutamine depletion by crisantaspase hinders the growth of human hepatocellular carcinoma xenografts. *Br J Cancer*, 2014, 111: 1159-67
- [90] Huang R, Zhang L, Jin J, et al. Bruceine D inhibits HIF-1 α -mediated glucose metabolism in hepatocellular carcinoma by blocking ICAT/ β -catenin interaction. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11: 3481-92
- [91] Sun J, Cao Y, Liu Q, et al. Chemical constituents, anti-tumor mechanisms, and clinical application: a comprehensive review on *Scutellaria barbata*. *Molecules*, 2024, 29: 4134
- [92] Kan X, Zhang W, You R, et al. *Scutellaria barbata* D. Don extract inhibits the tumor growth through down-regulating of Treg cells and manipulating Th1/Th17 immune response in hepatoma H22-bearing mice. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17: 41
- [93] Li Y, Zhang J, Zhang K, et al. *Scutellaria barbata* inhibits hepatocellular carcinoma tumorigenicity by inducing ferroptosis of hepatocellular carcinoma cells. *Front Oncol*, 2022, 12: 693395
- [94] Han T, Liu Y, Chen Y, et al. Identification of the mechanism of matrine combined with glycyrrhizin for hepatocellular carcinoma treatment through network pharmacology and bioinformatics analysis. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 2663758
- [95] Villar VH, Allegra MF, Deshmukh R, et al. Hepatic glutamine synthetase controls N5-methylglutamine in homeostasis and cancer. *Nat Chem Biol*, 2023, 19: 292-300
- [96] Ji G, Li Y, Zhang Z, et al. Recent advances of novel targeted drug delivery systems based on natural medicine monomers against hepatocellular carcinoma. *Heliyon*, 2024, 10: e24667
- [97] Shimada S, Mogushi K, Akiyama Y, et al. Comprehensive molecular and immunological characterization of hepatocellular carcinoma. *EBioMedicine*, 2019, 40: 457-70
- [98] Ye J, Lin Y, Liao Z, et al. Single cell-spatial transcriptomics and bulk multi-omics analysis of heterogeneity and ecosystems in hepatocellular carcinoma. *NPJ Precis Oncol*, 2024, 8: 262
- [99] Wang J, Liao J, Cheng Y, et al. LAPTM4B enhances the stemness of CD133⁺ liver cancer stem-like cells via WNT/ β -catenin signaling. *JHEP Rep*, 2024, 7: 101306
- [100] Chen Y, Dai S, Cheng CS, et al. Lenvatinib and immune-checkpoint inhibitors in hepatocellular carcinoma: mechanistic insights, clinical efficacy, and future perspectives. *J Hematol Oncol*, 2024, 17: 130