



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.260218
<http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.260218>
China Journal of General Surgery, 2026, 35(5):945-959.

· 基础研究 ·

GABRD 促进肝细胞癌恶性进展及美金刚靶向干预作用研究

黄城城, 刘维维, 李靖, 郑璐, 王超群

(中国人民解放军陆军军医大学第二附属医院 肝胆胰外科, 重庆 400037)

摘要

背景与目的: γ -氨基丁酸 A 型受体 δ 亚基 (GABRD) 在多种恶性肿瘤中异常表达并参与肿瘤进展, 但在肝细胞癌 (HCC) 中的生物学作用及药物干预价值尚不明确。本研究旨在探讨 GABRD 在 HCC 中的表达特征、促癌作用及其潜在分子机制, 并筛选针对 GABRD 的候选药物。

方法: 基于 HCCDB 和 TCGA 数据库分析 GABRD 表达及预后价值, 并结合临床组织样本进行验证。采用 CRISPR/Cas9 敲除和慢病毒过表达技术构建 GABRD 功能获得与缺失模型, 通过 CCK-8、EdU、克隆形成、划痕愈合及 Transwell 实验评价其对 HCC 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响; 利用皮下移植瘤、自发性肝癌及肺转移模型验证其体内作用。通过 RNA 测序结合 GO、KEGG 及 GSEA 分析探索其潜在机制。进一步采用结构基础虚拟筛选、分子对接及分子动力学模拟筛选靶向 GABRD 的小分子药物, 并通过体内外实验验证其抗肿瘤作用。

结果: GABRD 在 HCC 组织及细胞中显著高表达, 其高表达与患者总体生存期、疾病特异性生存期及无进展生存期缩短密切相关。敲除 GABRD 显著抑制 HCC 细胞增殖、迁移及侵袭能力, 而过表达 GABRD 则产生相反效应。动物实验显示, GABRD 缺失可明显抑制肿瘤生长和肺转移。转录组分析提示, GABRD 可能通过调控细胞因子-细胞因子受体相互作用、JAK-STAT 及上皮-间充质转化相关通路促进 HCC 进展。基于结构的虚拟筛选发现, 美金刚与 GABRD 具有较高结合亲和力, 并可下调 GABRD 表达水平。体内外实验进一步证实, 美金刚能够显著逆转 GABRD 介导的促增殖、促侵袭及促转移作用。

结论: GABRD 在 HCC 中高表达并促进肿瘤恶性进展, 是潜在的不良预后标志物和治疗靶点。美金刚可通过靶向 GABRD 抑制 HCC 生长与转移, 为 HCC 的靶向治疗及老药新用提供新的实验依据。

关键词

癌, 肝细胞; 受体, GABA-A; 美金刚

中图分类号: R735.7

GABRD promotes malignant progression of hepatocellular carcinoma and is a therapeutic target of memantine

HUANG Chengcheng, LIU Weiwei, LI Jing, ZHENG Lu, WANG Chaoqun

(Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract

Background and Aims: Gamma-aminobutyric acid type A receptor delta subunit (GABRD) has been

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82300727); 重庆市卫生健康委医学青年拔尖人才基金资助项目 (YXQN2025008); 重庆市自然科学基金资助项目 (CSTB2025NSCQ-GPX0061); 陆军军医大学科技创新能力提升专项基金资助项目 (2022XQN30)。

收稿日期: 2026-04-15; **修订日期:** 2026-05-17。

作者简介: 黄城城, 中国人民解放军陆军军医大学第二附属医院住院医师, 主要从事肝胆胰疾病的临床与基础方面的研究。

通信作者: 王超群, Email: wangchq92@tmmu.edu.cn; 郑璐, Email: zhengl@tmmu.edu.cn; 李靖, Email: xqyylj@tmmu.edu.cn

implicated in the progression of several malignancies, whereas its biological role and therapeutic relevance in hepatocellular carcinoma (HCC) remain largely unknown. This study aimed to investigate the expression pattern, oncogenic function, and potential molecular mechanisms of GABRD in HCC and to identify candidate small-molecule inhibitors targeting GABRD.

Methods: Public datasets from HCCDB and TCGA, together with clinical specimens, were used to evaluate GABRD expression and prognostic significance. Gain- and loss-of-function models were established using lentiviral overexpression and CRISPR/Cas9-mediated knockout approaches. Cell proliferation, migration, and invasion were assessed by CCK-8, EdU incorporation, colony formation, wound-healing, and Transwell assays. The *in vivo* effects were evaluated using subcutaneous xenograft, spontaneous HCC, and pulmonary metastasis models. RNA sequencing combined with GO, KEGG, and GSEA analyses was performed to explore downstream mechanisms. Structure-based virtual screening, molecular docking, and molecular dynamics simulations were applied to identify potential GABRD-targeting compounds, followed by *in vitro* and *in vivo* validation.

Results: GABRD was significantly upregulated in HCC tissues and cell lines, and its elevated expression was associated with unfavorable overall survival, disease-specific survival, and progression-free survival. GABRD knockout markedly inhibited HCC cell proliferation, migration, and invasion, whereas GABRD overexpression exerted opposite effects. *In vivo* studies further demonstrated that GABRD deficiency suppressed tumor growth and pulmonary metastasis. Transcriptomic analyses suggested that GABRD might promote HCC progression through cytokine-cytokine receptor interaction, JAK-STAT signaling, and epithelial-mesenchymal transition-related pathways. Structure-based virtual screening identified memantine as a potential GABRD-binding compound with high binding affinity. Memantine reduced GABRD expression and significantly reversed the pro-tumorigenic effects mediated by GABRD both *in vitro* and *in vivo*.

Conclusion: GABRD acts as an oncogenic regulator in HCC and may serve as a prognostic biomarker and therapeutic target. Memantine suppresses HCC growth and metastasis by targeting GABRD, providing experimental evidence for drug repurposing and novel targeted therapeutic strategies in HCC.

Key words

Carcinoma, Hepatocellular; Receptors, GABA-A; Memantine

CLC number: R735.7

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球最常见的恶性肿瘤之一, 具有起病隐匿、进展迅速、易侵袭转移、预后差等特点, 临床亟须寻找更为精准的预后标志物与安全有效的治疗靶点^[1-2]。

神经递质受体传统上主要在神经信号传导领域开展研究, 如今已被越来越多地证实是肿瘤进展的关键调控因子。谷氨酸受体可通过激活 MAPK 通路及钙依赖通路, 诱导代谢重编程促进肿瘤生长^[3-4]。烟碱型与毒蕈碱型乙酰胆碱受体介导的胆碱能信号, 能够增强多种实体瘤的生长, 其中尼古丁介导的受体激活对吸烟相关肿瘤进展尤为重要^[5-6]。在这些受体中, γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric

acid, GABA) 受体因其在癌症生物学中的双重作用而受到广泛研究。GABA 主要通过离子型 GABA_A 受体和代谢型 GABA_B 受体信号通路调控肿瘤微环境的稳态^[7-8]。而 GABA_A 型受体 δ 亚基 (GABA A receptor subunit δ , GABRD) 作为 A 型受体的关键功能亚基, 既往研究多聚焦于癫痫、抑郁等神经精神疾病^[9-11]。近年来, 随着肿瘤神经生物学的快速发展, 有研究^[12-13]发现 GABRD 可促进胃癌与结肠腺癌的恶性进展, 揭示了一种依赖神经递质调控的肿瘤发生发展机制。此外, GABA 合成关键酶—丙氨酸氨基转移酶 2 (glutamic pyruvate transaminase, GPT2) 通过自分泌 GABA, 并作用于细胞膜上的 GABRD, 从而驱动乳腺癌转移^[14]。然而, GABRD

在HCC中的表达特征、生物学功能及分子机制尚不清楚。

美金刚(memantine)是临床广泛应用的低亲和性非竞争性N-甲基-D-天门冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体拮抗剂,主要用于阿尔茨海默病、帕金森病与脑卒中等神经系统疾病的保护治疗^[15-17]。近年来研究发现,美金刚在胶质瘤、乳腺癌、胰腺癌等疾病中展现出显著的抗肿瘤活性,可通过抑制细胞增殖、侵袭及诱导细胞氧化应激损伤等途径延缓肿瘤恶性进展,具备良好的“老药新用”潜力^[18-21]。但其在HCC中的作用靶点与具体作用机制尚不明确。

本研究围绕GABRD在HCC中的功能及靶向干预展开系统探索。笔者发现美金刚可直接靶向结合GABRD并下调其表达,显著阻断GABRD介导的促癌效应,在体内外均能有效抑制HCC的恶性进展。本研究明确了GABRD在HCC中的促癌作用及其作为治疗靶点的价值,同时证实美金刚可通过靶向GABRD发挥抗HCC效应,为HCC提供了新的预后标志物与潜在干预策略,也为美金刚的临床新应用提供了实验基础。

1 材料与方法

1.1 主要药品与试剂

GABRD抗体购自Santa Cruz公司。E-cadherin、vimentin与Ki-67抗体购自Abcam公司。美金刚购自MCE公司。RNA提取试剂盒购自Axygen生物科技有限公司。逆转录试剂盒购自TOYOBO生物公司。qRT-PCR试剂盒购自赛维尔科技有限公司。

1.2 动物与细胞

BALB/c裸鼠:SPF级,雄性,4~6周龄,体质量18~22 g;C57BL/6小鼠:SPF级,雄性,5周龄,体质量16~18 g。小鼠均购自北京维通利华实验动物技术有限公司,所有小鼠均饲养于中国人民解放军陆军军医大学第二附属医院实验动物中心SPF级动物房,恒温22~24℃,12 h光暗循环,自由摄食饮水。本研究所有动物实验均经中国人民解放军陆军军医大学实验动物福利与伦理委员会批准(伦理批号:AMUWEC20255434),严格遵循实验动物伦理规范。HCC细胞株MHCC97H、HCCLM3、HuH7、SNU-449,正常肝细胞株WRL68,以及小鼠肝癌细胞Hepa1-6均购自中国科

学院上海细胞库。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 将处于对数生长期的HCC细胞接种于100 mm培养皿,用完全培养液(按照DMEM:胎牛血清:青霉素/链霉素=89:10:1的比例配制)孵育,在37℃、5% CO₂培养箱进行培养。

1.3.2 过表达/敲除细胞系构建 取对数生长期的HCC细胞,高表达GABRD的HCCLM3用于敲除,低表达的SNU-449用于过表达。使用靶向人源GABRD基因的特异性sgRNA,构建至CRISPR/Cas9慢病毒载体,包装病毒后感染HCCLM3细胞,敲除(knockout, KO)细胞内GABRD表达(HCCLM3-GABRD-KO);使用含有非靶向sgRNA(non-targeting control sgRNA, NTC)的CRISPR/Cas9慢病毒感染HCCLM3细胞,作为KO组的阴性对照(HCCLM3-NTC)。将GABRD基因全长CDS序列构建至过表达(overexpression, OE)慢病毒载体,包装病毒后感染SNU-449细胞(SNU-449-GABRD-OE);使用携带空载体的慢病毒感染SNU-449细胞,作为OE组的对照(SNU-449-control)。感染24 h后换液,48 h后加2 μg/mL嘌呤霉素筛选7~14 d,获得稳定细胞池,经qRT-PCR和Western blot验证敲除或过表达效率。

1.3.3 皮下瘤模型构建 将12只BALB/c裸鼠随机分成HCCLM3-NTC组和HCCLM3-GABRD-KO组,每组6只。每只裸鼠于右侧背部皮下注射150 μL细胞悬液。接种操作在生物安全柜内完成,确保无菌操作。

1.3.4 自发性肝癌模型构建 将20只5周龄C57BL/6小鼠随机平均分入对照组、GABRD敲低组(GABRD-KO组)、GABRD过表达组(GABRD-OE组)及阴性对照组。各组均通过水动力尾静脉注射基础质粒(pT3-AKT 10 μg、pT3-Myc 10 μg、pCAG-SB100 1.25 μg),并分别添加:对照组(pT3-EF1a-NC 10 μg)、GABRD-OE组(pT3-EF1a-GABRD 10 μg)、阴性对照组(pT3-U6-sgNC-EF1a-Cas9 10 μg)、GABRD-KO组(pT3-U6-sgGABRD-EF1a-Cas9 10 μg)。Sleeping Beauty转座酶介导质粒整合至肝细胞基因组,实现稳定表达或敲除。

1.3.5 肝癌肺转移模型构建 将稳定表达荧光素酶的小鼠Hepa1-6细胞(Hepa1-6-control/OE/NTC/KO)调整至1×10⁷个/mL。取6~8周龄C57BL/6小鼠20只,随机平均分为对照组、GABRD-OE组、NTC组、

GABRD-KO组。每只经尾静脉缓慢注射100 μ L细胞悬液（含 1×10^6 个细胞）。注射后第6周，腹腔注射D-荧光素钠（150 mg/kg），异氟烷麻醉后于活体成像系统（IVIS），以Living Image软件定量肺部肿瘤负荷。

1.3.6 美金刚体内动物实验 自发性肝癌模型小鼠于流体动力学尾静脉注射后第7天开始给药。以10 mg/kg的安全剂量进行腹腔注射^[22]，每2 d给药1次，连续给药4周。第4周结束后处死小鼠，分离肝脏并统计肿瘤数量、测量肿瘤体积。

1.3.7 qRT-PCR 提取细胞或组织总RNA，测定纯度与浓度后，反转录合成cDNA。以GAPDH为内参，采用SYBR Green法进行qPCR扩增：95 $^{\circ}$ C预变性30 s；95 $^{\circ}$ C变性5 s、60 $^{\circ}$ C退火延伸30 s，共40个循环。通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因的相对表达量。

1.3.8 Western blot 提取细胞或组织总蛋白，BCA法定量。取等量蛋白经SDS-PAGE电泳分离，湿转法转至PVDF膜（300 mA，90 min）。5%脱脂奶粉室温封闭1 h，加入一抗（如抗GABRD，1:1 000）4 $^{\circ}$ C孵育过夜，TBST洗膜后加HRP标记二抗（1:5 000）室温孵育1 h，ECL化学发光显影，以GAPDH为内参。

1.3.9 CCK-8实验 将细胞接种于96孔板（每孔约 2×10^3 个细胞），培养不同时间点（0、24、48、72 h）后，每孔加入10 μ L CCK-8试剂，37 $^{\circ}$ C孵育1~4 h，用酶标仪测定450 nm处吸光度，以反映活细胞数量。

1.3.10 EdU检测 将细胞接种于培养板或爬片，培养至合适密度后加入EdU工作液（终浓度10 μ M），37 $^{\circ}$ C孵育2 h。弃培养基，PBS清洗，4%多聚甲醛固定15 min，0.5% Triton X-100通透20 min。加入Click反应液（含荧光染料、CuSO₄、抗坏血酸等），避光孵育30 min，Hoechst染核后于荧光显微镜下观察，计算EdU阳性细胞比例。

1.3.11 克隆形成实验 将各组肝癌细胞经胰酶消化并制备单细胞悬液，按合适密度接种于培养皿中，常规恒温培养箱持续培养10~14 d。待肉眼可见清晰细胞克隆后，弃培养液，PBS清洗细胞，多聚甲醛固定、结晶紫染色，清水漂洗并干燥，显微镜下计数 ≥ 50 个细胞的克隆数目，统计分析组间克隆形成能力差异。

1.3.12 划痕实验 待各组HCC细胞在培养板内铺满至单层融合状态，使用无菌枪头垂直于板底均

匀划直线划痕。PBS轻柔洗涤去除脱落细胞，更换无血清培养基培养。于划痕后0、24、48 h后显微镜拍照，测量划痕愈合宽度，计算细胞迁移率，评估细胞水平迁移能力。

1.3.13 Transwell实验 采用孔径为8 μ m的Transwell小室先涂覆稀释的Matrigel基质。将 5×10^4 个细胞接种于200 μ L无血清培养基中，置于上室；下室则填充600 μ L含10%胎牛血清的完全培养基作为趋化剂。孵育48 h后，用棉签轻柔去除膜上表面的未侵袭细胞；下表面的侵袭细胞经甲醇固定、结晶紫染色后，在显微镜下随机选取5个视野进行计数。

1.3.14 免疫荧光 细胞爬片免疫荧光简要步骤：将细胞接种于爬片，培养至合适密度后，PBS清洗，4%多聚甲醛固定15 min，0.5% Triton X-100通透15 min，5% BSA室温封闭30 min。加入一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜，PBS洗涤后加荧光标记二抗室温避光孵育1 h，DAPI染核，封片后于荧光显微镜下观察。

1.3.15 免疫组化 切片脱蜡至水，枸橼酸盐缓冲液微波抗原修复，3% H₂O₂封闭内源性过氧化物酶，5% BSA封闭30 min，滴加一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜，HRP标记二抗室温孵育1 h，DAB显色，苏木精复染，封片后观察棕黄色阳性信号。

1.3.16 HE染色 组织经4%多聚甲醛固定、石蜡包埋后切片（4 μ m），脱蜡至水，苏木精染色5~10 min，盐酸乙醇分化，伊红染色2~3 min，脱水透明后封片，光镜下观察细胞核（蓝紫色）及胞质/间质（粉红色）。

1.3.17 转录组测序与生物信息学分析 转录组测序（RNA-seq）先通过文库构建与高通量测序获得基因表达定量数据。在此基础上，基因本体论（Gene Ontology，GO）富集分析利用超几何检验将差异表达基因按生物学过程、细胞组分和分子功能三类进行功能注释；KEGG通路分析则同样基于差异基因，识别显著富集的代谢或信号通路；GSEA将所有基因按与表型的关联度排序，评估预设基因集在排序列表中的整体富集趋势。

1.3.18 小分子药物筛选 以GABRD的AlphaFold预测结构为靶点，经Schrödinger软件预处理、SiteMap模块定义活性位点后，对FDA批准的小分子化合物库进行类药性筛选及Glide高通量分子对接，依据对接评分及相互作用特征筛选候选分子；选取对接最优分子与GABRD构建复合物，采用

GROMACS 软件、CHARMM36 力场进行 100 ns 分子动力学模拟,经能量最小化、NVT 及 NPT 平衡后,分析复合物回转半径、同时根均方偏差、氢键及吉布斯自由能景观以验证构象稳定性。

1.4 统计学处理

使用 GraphPad Prism 9.0 及 SPSS 25.0 分析数据。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组比较用 t 检验(独立或配对),多组比较用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GABRD 在 HCC 组织中高表达,并与 HCC 患者不良预后相关

首先利用 HCCDB 数据库在单细胞水平分析 GABRD 在细胞中的表达情况。分析显示,恶性 HCC 细胞中 GABRD 表达水平显著高于邻近的非癌细胞及正常肝细胞(图 1A-B)。基于 TCGA-LIHC 数据库分析也证实了这种上调现象,与正常肝组织相比,GABRD mRNA 在 HCC 组织中显著上调($P < 0.05$)(图 1C);在配对癌与癌旁组织比较中,GABRD 在癌组织中同样呈明显高表达($P < 0.05$)(图 1D)。进一步按肿瘤分期分析发现,T1-T4 各期 HCC 组织中 GABRD 表达均显著高于正常组织($P < 0.05$)(图 1E)。依据表达均值将患者分为高低表达组,Kaplan-Meier 生存分析显示,高表达组总生存期(图 1F)、疾病特异性生存期(图 1G)及无进展生存期(图 1H)均显著缩短。综上,GABRD 在 HCC 中高表达,可作为预测患者不良预后的潜在分子标志物。HCC 组织芯片免疫组织化学染色结果显示,在正常肝组织和癌旁组织中,GABRD 呈现低表达或不表达,而在 HCC 组织中可见明显的阳性染色($P < 0.05$)(图 1I)。后续 Western blot 结果显示,癌组织中 GABRD 蛋白水平显著高于其配对的癌旁组织($P < 0.05$)(图 1J)。同时 HCC 细胞系中 GABRD 的蛋白与 mRNA 表达水平均高于正常肝永生细胞 WRL68(均 $P < 0.05$)(图 1K-L)。值得注意的是,具有高转移潜能的 HCCLM3 和 MHCC97H 细胞中 GABRD 的表达水平最高,而相对低转移潜能的 HuH7 和 SNU-449 细胞中 GABRD 的表达水平相对较低。

2.2 敲除 GABRD 抑制 HCC 细胞增殖、侵袭与转移

选择内源性 GABRD 相对高表达的 HCCLM3 细

胞进行 CRISPR/Cas9 介导的 GABRD 敲除实验($P < 0.05$)(图 2A-B)。CCK-8 检测显示,GABRD-KO 组的 HCCLM3 细胞增殖速率相较于对照组显著降低($P < 0.05$)(图 2C)。EdU 染色同样提示,GABRD-KO 明显抑制 HCC 细胞增殖速度($P < 0.05$)(图 2D)。而平板克隆形成实验发现敲除 HCC 细胞中 GABRD 后形成的细胞克隆数量显著少于 NTC 组($P < 0.05$)(图 2E)。HCC 细胞的迁移和侵袭能力是肿瘤发生远处转移的关键步骤。后续划痕实验提示,GABRD-KO 组细胞的划痕愈合率低于 NTC 组($P < 0.05$)(图 2F),提示敲除 GABRD 抑制了细胞的迁移运动。Transwell 实验结果显示,敲除 GABRD 后明显抑制了 HCC 细胞的侵袭潜能($P < 0.05$)(图 2G)。

2.3 过表达 GABRD 促进 HCC 细胞增殖、侵袭与转移

随后笔者在 GABRD 相对低表达的 SNU-449 细胞中过表达 GABRD($P < 0.05$)(图 3A-B)。CCK-8 检测结果显示,与空载体对照组相比,GABRD 过表达组(GABRD-OE 组)的 SNU-449 细胞增殖能力显著高于对照组($P < 0.05$)(图 3C)。EdU 实验结果进一步支持了这一结论:GABRD-OE 组中 EdU 阳性细胞比例显著高于对照组($P < 0.05$,图 3D)。平板克隆形成实验展示了同样的结果($P < 0.05$)(图 3E)。划痕与 Transwell 实验则显示过表达 GABRD 后对 HCC 细胞迁移与侵袭能力的促进作用($P < 0.05$)(图 3F-G)。以上结果证实:GABRD 在体外显著促进 HCC 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

2.4 沉默 GABRD 抑制小鼠体内 HCC 肿瘤的生长与远处转移

为从体内层面探究 GABRD 对 HCC 进展的调控效用。笔者利用 GABRD-KO 与相应对照细胞构建裸鼠皮下瘤模型。与阴性对照组相比,GABRD 敲除组的肿瘤生长速度明显延缓,平均肿瘤体积也显著小于阴性对照组($P < 0.05$)(图 4A-C)。肿瘤组织 Ki-67 免疫组化染色结果显示,GABRD-KO 组肿瘤组织中 Ki-67 阳性区域的平均光密度值低于阴性对照组($P < 0.05$)(图 4D),表明 GABRD 敲除抑制了肿瘤细胞在体内的增殖活性。同时利用 Myc 和 Akt 质粒构建了小鼠自发性肝癌模型。质粒注射后 4 周,所有小鼠肝脏均成功形成肿瘤。与阴性对照组相比,注射 GABRD 敲除质粒的小鼠肝脏的肿瘤结节数量显著减少,同时最大肿瘤结节直径也较小

($P<0.05$) (图4E-F)。鉴于体外实验证实了GABRD能够增强HCC细胞的迁移与侵袭能力,笔者推测其可能促进小鼠体内HCC远处转移的能力。小鼠肺转移模型结果提示敲除GABRD后能够明显抑制HCC细胞肺转移能力($P<0.05$) (图4G)。小鼠肺

脏HE染色结果显示,GABRD敲除组的肺转移结节数量显著少于阴性对照组($P<0.05$) (图4H)。上述结果表明,沉默小鼠体内GABRD能够抑制HCC远处转移。

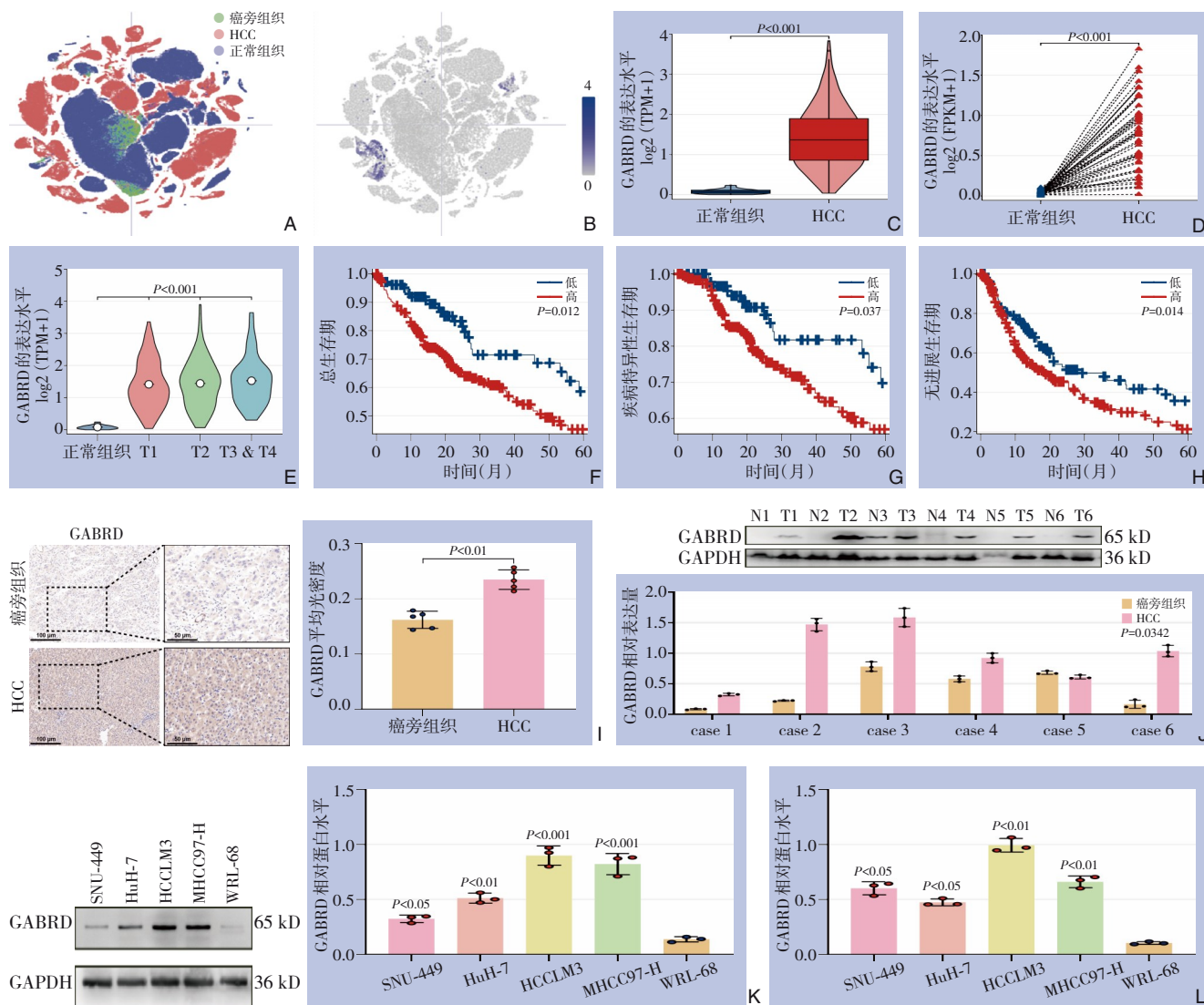


图1 GABRD在HCC中高表达并与患者不良预后相关 A: 基于HCCDB数据库单细胞RNA测序数据的t-SNE图; B: 同数据集下GABRD相对表达水平的t-SNE图(灰→蓝:低→高); C-D: TCGA数据库显示GABRD在HCC组织与正常组织中表达情况; E: 不同分期HCC组织中GABRD的mRNA表达水平与正常组织比较; F-H: 基于TCGA数据的Kaplan-Meier生存曲线; I: HCC组织芯片的免疫组化染色结果($n=5$; 标尺: 左100 μm , 右50 μm); J: 6例配对HCC癌与癌旁组织中GABRD蛋白的Western blot检测结果; K-L: Western blot和qRT-PCR检测正常肝细胞系WRL68与不同HCC细胞系中GABRD的蛋白和mRNA表达水平($n=3$)

Figure 1 GABRD is highly expressed in HCC and is associated with poor prognosis in patients A: t-SNE plot based on single-cell RNA sequencing data from the HCCDB database; B: t-SNE plot showing relative expression levels of GABRD in the same dataset (gray→blue: low→high); C-D: Expression of GABRD in HCC tissues and normal tissues based on TCGA database; E: Comparison of GABRD mRNA expression levels between HCC tissues of different stages and normal tissues; F-H: Kaplan-Meier survival curves based on TCGA data; I: Immunohistochemical staining of HCC tissue microarray ($n=5$; scale bar: left 100 μm , right 50 μm); J: Western blot analysis of GABRD protein expression in 6 paired HCC tumor and adjacent non-tumor tissues; K-L: Western blot and qRT-PCR analysis of GABRD protein and mRNA expression levels in normal hepatocyte cell line WRL68 and different HCC cell lines ($n=3$)

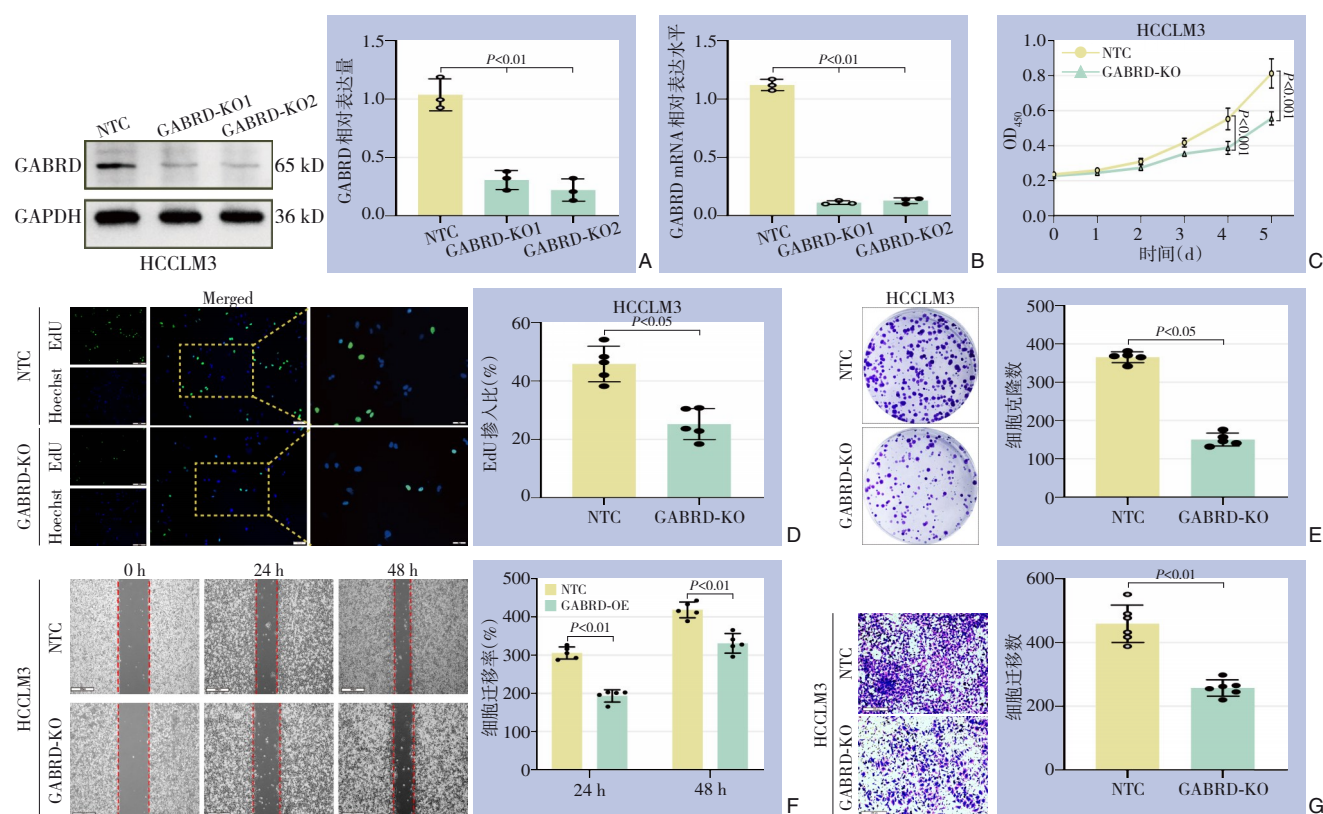


图2 敲除GABRD抑制HCC细胞增殖、侵袭与迁移 A-B: Western blot与qRT-PCR验证HCCLM3细胞中GABRD的敲除效率 ($n=3$); C: CCK-8实验检测GABRD敲除后HCCLM3细胞的增殖曲线; D: EdU实验检测GABRD敲除后细胞的增殖能力 ($n=5$; 标尺: 左200 μm , 中100 μm , 右50 μm); E: 克隆形成实验检测GABRD敲除后细胞的增殖能力 ($n=5$); F: 划痕愈合实验检测GABRD敲除后细胞的迁移能力 ($n=5$; 标尺: 500 μm); G: Transwell实验检测GABRD敲除后细胞的侵袭能力 ($n=5$; 标尺: 200 μm)

Figure 2 GABRD knockout suppresses proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells A-B: Validation of GABRD knockout efficiency in HCCLM3 cells using Western blot and qRT-PCR ($n=3$); C: CCK-8 assay showing proliferation of HCCLM3 cells after GABRD knockout; D: EdU assay showing proliferative activity after GABRD knockout ($n=5$; scale bars: left 200 μm , middle 100 μm , right 50 μm); E: Colony formation assay showing proliferative capacity after GABRD knockout ($n=5$); F: Wound-healing assay showing migratory ability after GABRD knockout ($n=5$; scale bar: 500 μm); G: Transwell invasion assay showing invasive ability after GABRD knockout ($n=5$; scale bar: 200 μm)

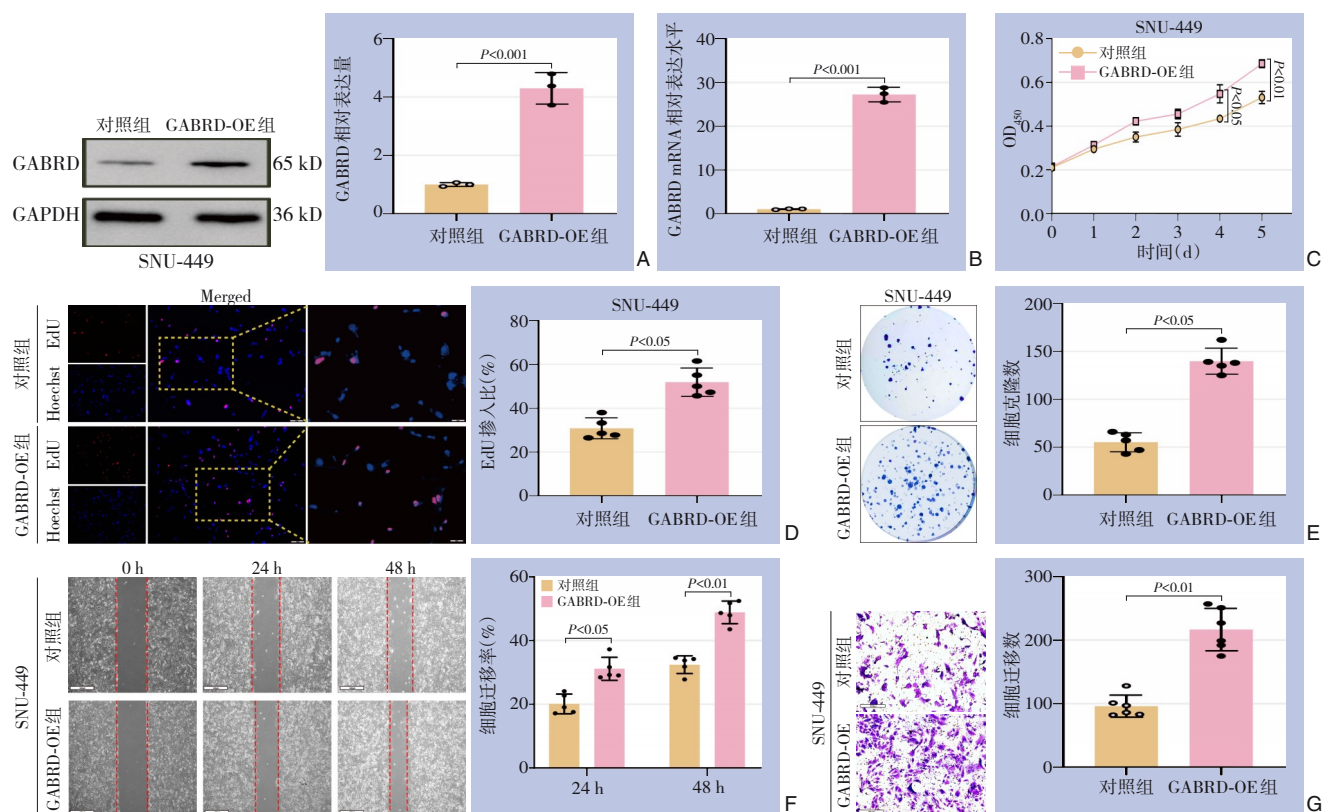


图3 GABRD过表达促进HCC细胞增殖、侵袭与迁移 A-B: Western blot与qRT-PCR验证SNU-449细胞中GABRD过表达效率($n=3$); C: CCK-8实验检测GABRD过表达后SNU-449细胞的增殖曲线; D: EdU实验检测GABRD过表达后细胞的增殖能力($n=5$; 标尺: 左200 μm , 中100 μm , 右50 μm); E: 克隆形成实验检测GABRD过表达后细胞增殖能力($n=5$); F: 划痕愈合实验检测GABRD过表达后细胞的迁移能力($n=5$; 标尺: 500 μm); G: Transwell实验检测GABRD过表达后细胞的侵袭能力($n=5$; 标尺: 200 μm)

Figure 3 GABRD overexpression promotes proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells A-B: Western blot and qRT-PCR validation of GABRD overexpression efficiency in SNU-449 cells ($n=3$); C: CCK-8 assay showing proliferation of SNU-449 cells after GABRD overexpression; D: EdU assay showing proliferative activity after GABRD overexpression ($n=5$; scale bars: left 200 μm , middle 100 μm , right 50 μm); E: Colony formation assay showing proliferative capacity after GABRD overexpression ($n=5$); F: Wound-healing assay showing migratory ability after GABRD overexpression ($n=5$; scale bar: 500 μm); G: Transwell invasion assay showing invasive ability after GABRD overexpression ($n=5$; scale bar: 200 μm)

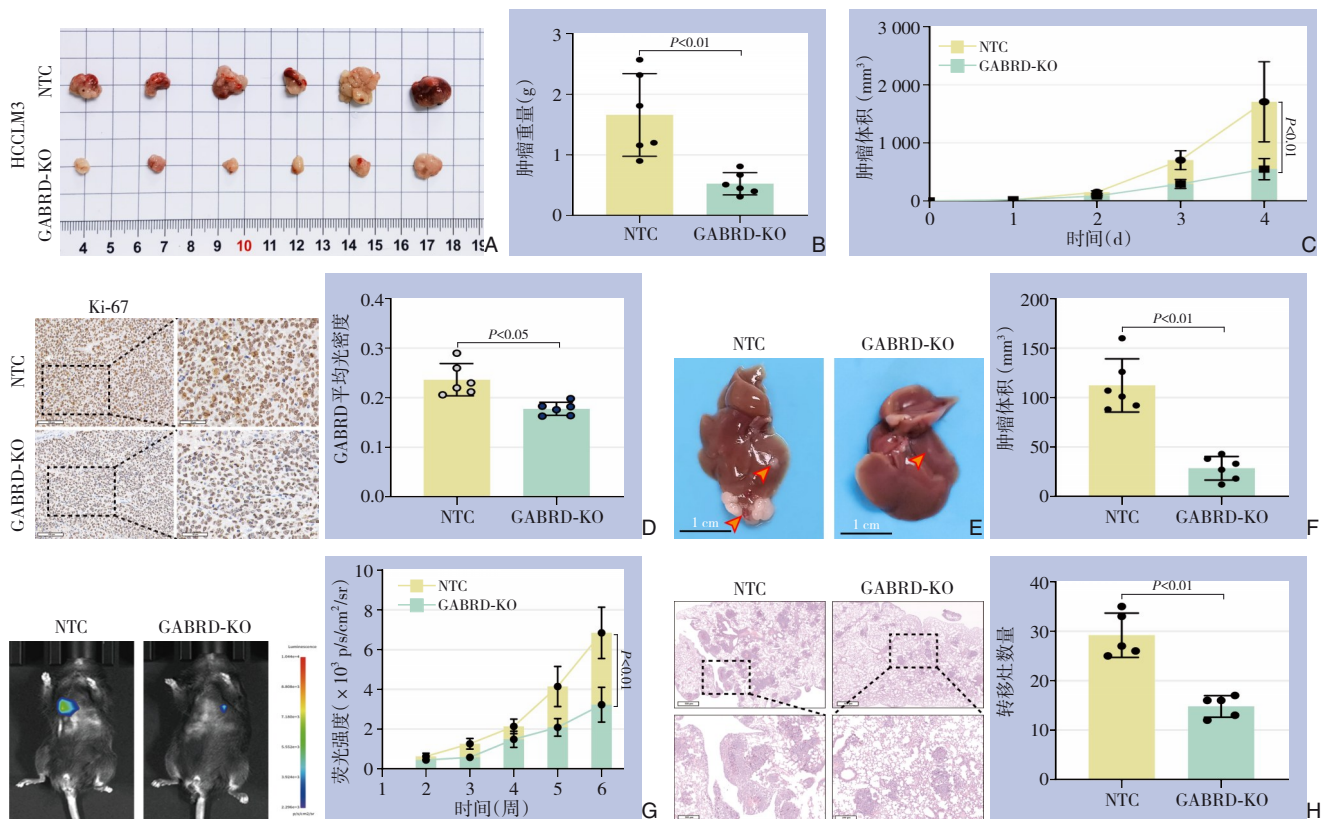


图4 敲除GABRD抑制小鼠HCC皮下瘤、原位自发瘤以及肺转移瘤的形成 A: NTC组与GABRD-KO组的皮下移植瘤大体照片 ($n=6$); B: 两组肿瘤重量统计柱状图; C: 两组肿瘤生长曲线; D: 皮下肿瘤组织Ki-67免疫组化染色代表性图片及阳性区域的平均光密度值统计 ($n=6$; 标尺: 左100 μm , 右50 μm); E-F: 自发性肝癌模型小鼠肝脏大体照片以及肝脏肿瘤体积统计柱状图 ($n=6$); G: 小鼠肺部活体成像图片及各组小鼠肺部生物发光信号强度统计 ($n=5$); H: 肺组织HE染色代表性图片以及肺部转移结节数量统计柱状图 ($n=5$; 标尺: 上500 μm , 下200 μm)

Figure 4 GABRD deficiency inhibits tumor growth and pulmonary metastasis in hepatocellular carcinoma mouse models

A: Representative images of subcutaneous xenograft tumors in the NTC and GABRD-KO groups ($n=6$); B: Comparison of tumor weights between the two groups; C: Tumor growth curves of subcutaneous xenografts; D: Representative Ki-67 immunohistochemical staining and quantitative analysis of Ki-67-positive areas ($n=6$; scale bars: left 100 μm , right 50 μm); E-F: Representative liver images from the spontaneous HCC model and quantitative analysis of liver tumor volume in the spontaneous HCC model ($n=6$); G: In vivo bioluminescence imaging of pulmonary metastases and quantification of bioluminescence intensity ($n=5$); H: Representative HE staining of lung tissues and quantitative analysis of pulmonary metastatic nodules ($n=5$; scale bars: upper 500 μm , lower 200 μm)

2.5 细胞因子及受体相互作用可能参与GABRD诱导的HCC进展

为进一步明确GABRD诱导HCC进展的潜在机制,笔者对两组小鼠HCC自发瘤组织进行了转录组测序。与对照小鼠相比,GABRD敲除组有205个基因表达显著上调,232个基因表达下调(图5A)。GO分析结果提示,GABRD可能通过调节细胞迁移、运动过程参与HCC进展(生物过程)(图5B);细胞组分分类显示细胞表面受体复合物及细胞膜成分具有重要生物学活性(图5C);分子功能分类揭示细胞因子及受体轴、蛋白结合等功能参与

GABRD发挥的促肿瘤效应(图5D)。KEGG通路分析同样提示,GABRD与细胞因子-受体以及促细胞生长相关信号通路存在显著相关性(图5E)。而GSEA结果显示,GABRD与上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)存在正向调控关系($P<0.05$)(图5F)。免疫荧光实验通过对EMT通路相关指标进行检测,证实敲除GABRD后能够明显抑制EMT通路的激活($P<0.05$)(图5G)。上述高通量测序结果提示GABRD可能通过调控细胞因子-受体信号轴参与HCC的增殖与转移过程。

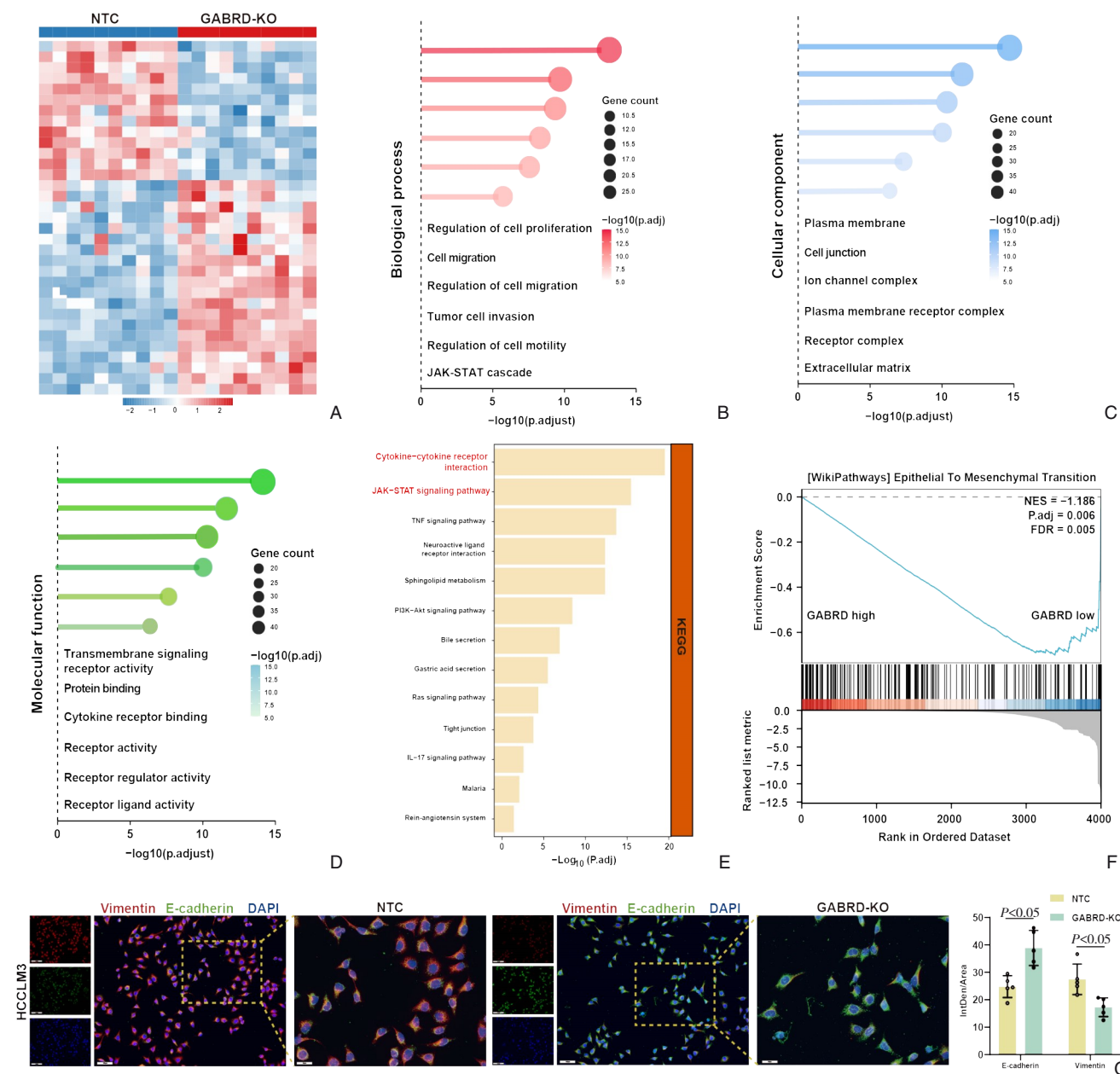


图5 RNA-seq分析提示GABRD敲除可能抑制细胞因子-细胞因子受体相互作用、JAK-STAT及EMT相关信号通路 A: 敲除GABRD后与对照组差异基因热图; B-D: GO分析显示敲除GABRD后显著抑制的细胞功能(BP、CC、MF); E: KEGG分析显示敲除GABRD后显著抑制的信号通路; F: GSEA分析显示GABRD与EMT通路相关基因呈显著正相关关系; G: 免疫荧光显示敲除GABRD后抑制EMT信号通路($n=5$; 标尺: 左200 μm , 中100 μm , 右50 μm)

Figure 5 RNA-seq analyses suggest that GABRD knockout suppresses cytokine-cytokine receptor interaction, JAK-STAT signaling, and EMT-related pathways A: Heatmap of differentially expressed genes between the GABRD-KO and control groups; B-D: GO enrichment analysis showing significantly suppressed BP, CC, and MF terms after GABRD knockout; E: KEGG pathway enrichment analysis of differentially expressed genes; F: GSEA showing a positive association between GABRD expression and EMT-related gene signatures; G: Immunofluorescence staining showing inhibition of EMT-related markers after GABRD knockout ($n=5$; scale bars: left 200 μm , middle 100 μm , right 50 μm)

2.6 美金刚通过下调GABRD表达发挥抑制HCC进展作用

为探究GABRD的药理抑制特性, 可视化GABRD的蛋白质结构, 并基于GABRD的跨膜结构

域(图6A), 对FDA批准的小分子化合物文库进行了虚拟筛选。其中NMDA受体拮抗剂—美金刚与GABRD对接评分最高(图6B)。后续对美金刚-GABRD复合物进行分子动力学模拟, 结果显

示, GABRD 回转半径、复合物间存在持续氢键相互作用, 同时根均方偏差 (root mean square deviation, RMSD) 与根均方波动 (root mean square fluctuation, RMSF) 曲线稳定, 存在持续氢键相互作用, 并在自由能形貌图中呈现紧凑的低能阱区, 提示二者可形成构象稳定的结合状态 (图 6C-I)。上述结果一致表明美金刚可以与 GABRD 稳定结合, 并对 GABRD 发挥调节作用。进一步体外功能

实验发现, 美金刚通过浓度依赖性方式下调 GABRD 蛋白表达 ($P<0.05$) (图 7A), 同时显著逆转 GABRD 发挥的促 HCC 细胞增殖、侵袭与迁移作用 ($10\ \mu\text{m}$) ($P<0.05$) (图 7B-F)。体内实验显示, 小鼠经腹腔注射美金刚 ($10\ \text{mg/kg}$) 后, GABRD 过表达组肝脏自发肿瘤的生长受到明显抑制 ($P<0.05$) (图 7G)。同时, 美金刚还可抑制 GABRD 过表达诱发的 HCC 肺转移效应 ($P<0.05$) (图 7H-I)。

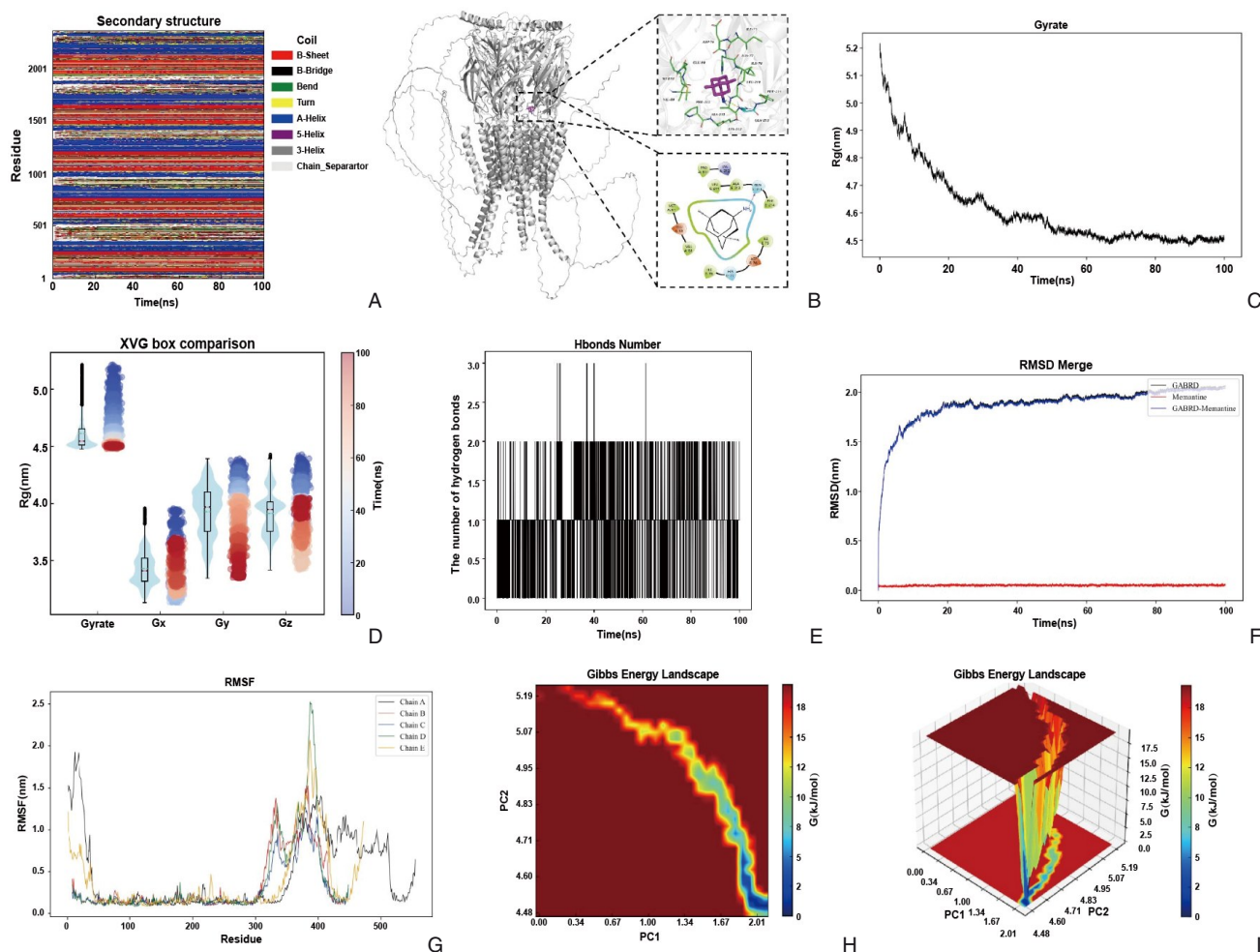


图6 美金刚与GABRD形成稳定的蛋白质-小分子化合物复合体 A: GABRD蛋白二级结构解析; B: GABRD与美金刚复合物分子对接模式图; C-D: GABRD与美金刚结合形成过程中GABRD的回旋半径显示体系结构稳定性良好; E: 由GABRD与美金刚结合形成的氢键相互作用显示复合物具有较高整体稳定性; F: GABRD与美金刚复合物RMSD检测显示美金刚对GABRD具有优异结合位点适应性; G: GABRD与美金刚复合物RMSF检测显示复合物体系具有稳定的活性区域构象; H-I: GABRD与美金刚自由能检测显示美金刚与GABRD蛋白间较高的亲和力

Figure 6 Stable protein-small molecule complex formation between memantine and GABRD A: Secondary structure analysis of the GABRD protein; B: Molecular docking model of the GABRD-memantine complex; C-D: Radius of gyration analysis during the binding process between GABRD and memantine, indicating favorable structural stability of the complex system; E: Hydrogen-bond interactions formed between GABRD and memantine, demonstrating high overall stability of the complex; F: RMSD analysis of the GABRD-memantine complex, showing excellent binding-site adaptability of memantine to GABRD; G: RMSF analysis of the GABRD-memantine complex, indicating a stable conformation of the active regions within the complex; H-I: Free-energy analysis of the GABRD-memantine complex, demonstrating a high binding affinity between memantine and the GABRD protein

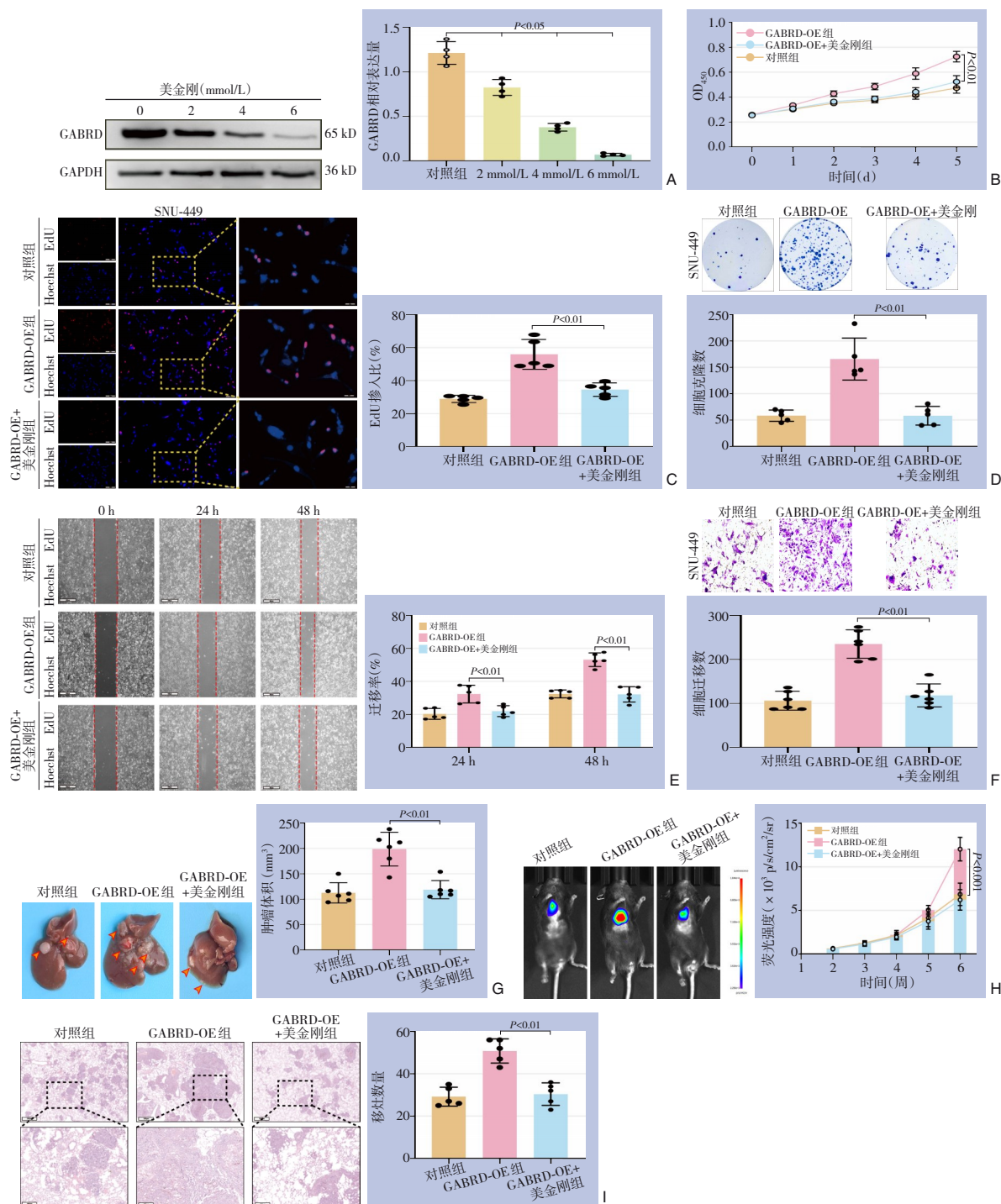


图7 美金刚预处理逆转GABRD介导的HCC促进效应 A: 美金刚预处理抑制GABRD蛋白水平 ($n=4$); B-D: CCK-8、EdU检测与克隆形成实验提示美金刚预处理逆转GABRD发挥的促进HCC细胞增殖作用 ($n=5$); E: 划痕愈合实验提示美金刚预处理逆转GABRD发挥的促进HCC细胞侵袭与迁移作用 ($n=5$); F: Transwell实验提示美金刚预处理逆转GABRD发挥的促进HCC细胞侵袭与迁移作用 ($n=6$); G: 自发肝癌模型提示美金刚预处理抑制GABRD导致的促肿瘤效应 ($n=6$); H-I: 小动物活体成像与HE染色结果提示美金刚预处理抑制GABRD诱导的HCC肺转移效应 ($n=5$)

Figure 7 Memantine pretreatment reverses the GABRD-mediated tumor-promoting effects in HCC A: Memantine pretreatment suppresses GABRD protein expression levels ($n=4$); B-D: CCK-8, EdU, and colony formation assays showing that memantine pretreatment reverses the GABRD-mediated promotion of HCC cell proliferation ($n=5$); E: Wound-healing assay showing that memantine pretreatment reverses the GABRD-mediated enhancement of HCC cell migration and invasion ($n=5$); F: Transwell assay showing that memantine pretreatment reverses the GABRD-mediated enhancement of HCC cell migration and invasion ($n=6$); G: Spontaneous HCC mouse model showing that memantine pretreatment suppresses the GABRD-induced tumor-promoting effect ($n=6$); H-I: In vivo bioluminescence imaging and HE staining demonstrating that memantine pretreatment inhibits GABRD-induced pulmonary metastasis of HCC ($n=5$)

3 讨论

本研究证实GABRD在HCC中显著高表达并与患者不良预后密切相关。并通过体内体外实验证实了GABRD对HCC增殖与侵袭转移的促进作用。同时,基于结构的虚拟筛选技术发掘出靶向抑制GABRD的小分子药物—美金刚。本研究揭示了美金刚/GABRD轴作为干预HCC进展的新发现,为肝癌靶向治疗提供了新的实验依据与理论基础。

传统研究中神经递质受体主要聚焦于神经信号调控,而近年研究证实谷氨酸受体、胆碱能受体、多巴胺及5-羟色胺受体等均可通过调控肿瘤细胞增殖、血管生成、免疫微环境等参与肿瘤进展^[3,6,23-24]。前期研究发现GABRD作为GABA_A受体在胶质瘤、食管癌及乳腺癌进展过程中发挥关键调节作用。在胶质瘤进展过程中,GABRD与肿瘤浸润巨噬细胞及集落刺激因子1(colony stimulating factor 1, CSF1)呈负相关,高表达GABRD可抑制巨噬细胞浸润,进而诱导抗肿瘤免疫微环境^[25];Yuan等^[26]证实,GABRD与DEP结构域蛋白质1B(DEP domain containing protein 1B, DEPDC1B)的蛋白复合物,通过PI3K/Akt/mTOR信号通路来调控食管鳞状细胞癌的发展进程;此外,谷氨酰胺代谢和GABA信号通路在肿瘤的迁移和侵袭过程中也发挥着关键作用。GPT2水平的升高会促进谷氨酰胺的代谢,从而增加GABA的生成。GABA通过激活GABRD,提高细胞内钙离子浓度,进而激活PKC-CREB信号通路,促进乳腺癌转移^[14]。本研究初步发现,GABRD通过调控细胞膜细胞因子-细胞因子受体通路及JAK-STAT信号轴促进HCC进展的潜在可能性,拓展了神经递质受体介导HCC发生发展的理论体系,提示GABA能信号异常是HCC进展的重要特征之一。笔者也将在未来的研究中进一步明确上述猜想。

GABRD在多种肿瘤中发挥促癌作用,但其在HCC中可被小分子药物靶向调控的效应尚未报道^[27]。既往研究证实,美金刚通过抑制肿瘤细胞增殖并诱导其凋亡发挥抗肿瘤活性。Albayrak等^[28]发现美金刚通过诱导癌细胞凋亡缓解前列腺癌进展;同时,美金刚还能够抑制细胞周期相关蛋白的表达,从而作为治疗卵巢癌的辅助用药^[29]。目前美金刚对HCC辅助治疗作用尚不清楚。本研究基于GABRD蛋白结构进行虚拟筛选,发现美金刚

可与GABRD直接稳定地结合,且美金刚可显著下调GABRD的蛋白表达水平。研究报道,小分子药物可通过分子胶方式,诱导靶蛋白的泛素化降解发挥作用;还可人工通过蛋白降解靶向嵌合体技术,诱导靶蛋白多聚泛素化,随后被蛋白酶体识别并降解^[30];同时,小分子药物结合靶蛋白的变构位点可诱导其构象变化,降低靶蛋白稳定性^[31]。因此,笔者推测,美金刚可能通过上述方式诱导GABRD蛋白的降解。

尽管本研究明确了GABRD对HCC恶性生物学行为的促进作用,但经高通量测序探索的GABRD调控HCC进展的具体分子机制仍待进一步验证。既往研究^[32-35]证实,细胞因子可通过结合其细胞膜上相应受体,激活下游JAK-STAT通路,进而维持细胞活力促进肿瘤进展。本研究测序结果提示,GABRD过表达可显著富集细胞因子-细胞因子受体与JAK-STAT信号通路,并诱导HCC细胞生长与迁移。然而,当前仍缺乏直接证据以及相应实验对上述推测进行系统验证。GABRD作为膜受体,是否通过调控细胞因子受体的多聚化水平而影响相关信号通路的激活?同时,美金刚又是通过何种方式下调GABRD蛋白水平的?针对上述仍不明确的问题,后续研究中仍需深入探索与系统验证。本研究仍存在一定局限性:首先,临床样本量相对有限;其次,RNA测序提示的细胞因子-细胞因子受体及JAK-STAT信号通路尚缺乏进一步机制验证;此外,美金刚与GABRD的直接结合及其诱导GABRD下调的分子机制仍需通过生化实验进一步证实。未来将结合功能回复实验及蛋白互作研究进一步阐明其作用机制。

综上,本研究证实GABRD在HCC中显著高表达并促进肿瘤增殖与转移,与患者不良预后密切相关。基于结构的虚拟筛选发现美金刚可直接靶向GABRD,从而有效抑制HCC进展,为“老药新用”提供依据。机制上,生物信息学分析初步提示细胞因子-细胞因子受体及JAK-STAT通路参与GABRD介导的促肿瘤效应。GABRD有望作为判断HCC预后的标志物,为肝癌靶向治疗提供新策略。

作者贡献声明:黄城城负责大部分实验实施,数据分析和文章撰写;刘维维负责部分动物实验实施;李靖、郑璐、王超群负责经费支持、审校稿件和指导课题实施。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] 袁声贤, 丁冬阳, 周伟平. 原发性肝癌转化治疗进展与思考[J]. 中国普通外科杂志, 2026, 35(1): 53-59. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.250551.
- Yuan SX, Ding DY, Zhou WP. Advances and perspectives on conversion therapy for primary liver cancer[J]. China Journal of General Surgery, 2026, 35(1): 53-59. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.250551.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政司. 原发性肝癌诊疗指南(2026年版)[J]. 中国普通外科杂志, 2026, 35(4): 603-673. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.260031.
- Department of Medical Administration, National Health Commission of the People's Republic of China. Guidelines for the diagnosis and treatment of primary liver cancer (2026 edition)[J]. China Journal of General Surgery, 2026, 35(4): 603-673. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.260031.
- [3] Zhang Y, Liu D, Guo D, et al. CPSF3 regulates alternative polyadenylation of CNH2 to promote esophageal squamous cell carcinoma progression[J]. Cancer Lett, 2024, 593: 216925. doi: 10.1016/j.canlet.2024.216925.
- [4] Ren L, Liu C, Çifcibaşı K, et al. Sensory neurons drive pancreatic cancer progression through glutamatergic neuron-cancer pseudo-synapses[J]. Cancer Cell, 2025, 43(12): 2241-2258. doi: 10.1016/j.ccell.2025.09.003.
- [5] Kasheverov IE, Shelukhina IV, Utkin YN, et al. Marine-derived ligands of nicotinic acetylcholine receptors in cancer research[J]. Mar. Drugs, 2025, 23(10): 389. doi: 10.3390/md23100389.
- [6] Zhang C, Guo X, Wang Y, et al. The role of acetylcholine and its receptors in tumor immune regulation: mechanisms and potential therapeutic targets[J]. Mol Cancer, 2025, 24(1): 231. doi: 10.1186/s12943-025-02441-4.
- [7] Qian X, Zhao X, Yu L, et al. Current status of GABA receptor subtypes in analgesia[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 168: 115800. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115800.
- [8] Huang D, Wang Y, Thompson JW, et al. Cancer-cell-derived GABA promotes β -catenin-mediated tumour growth and immunosuppression[J]. Nat Cell Biol, 2022, 24(2): 230-241. doi: 10.1038/s41556-021-00820-9.
- [9] Granados-Fuentes D, Lambert P, Simon T, et al. GABA_A receptor subunit composition regulates circadian rhythms in rest-wake and synchrony among cells in the suprachiasmatic nucleus[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2024, 121(31): e2400339121. doi: 10.1073/pnas.2400339121.
- [10] Guo Z, Tian C, Shi Y, et al. Blood-based CNS regionally and neuronally enriched extracellular vesicles carrying pTau217 for Alzheimer's disease diagnosis and differential diagnosis[J]. Acta Neuropathol Commun, 2024, 12(1): 38. doi: 10.1186/s40478-024-01727-w.
- [11] Luscher B, Maguire JL, Rudolph U, et al. GABA_A receptors as targets for treating affective and cognitive symptoms of depression[J]. Trends Pharmacol Sci, 2023, 44(9): 586-600. doi: 10.1016/j.tips.2023.06.009.
- [12] Huang F, Wang Z, Zhu L, et al. Comprehensive analysis of the expression, prognostic value, and immune infiltration activities of GABRD in colon adenocarcinoma[J]. Mediat Inflamm, 2023, 2023: 8709458. doi: 10.1155/2023/8709458.
- [13] Leng W, Ye J, Wen Z, et al. GABRD accelerates tumour progression via regulating CCND1 signalling pathway in gastric cancer[J]. J Cell Mol Med, 2025, 29(7): e70485. doi: 10.1111/jcmm.70485.
- [14] Li N, Xu X, Liu D, et al. The delta subunit of the GABA_A receptor is necessary for the GPT2-promoted breast cancer metastasis[J]. Theranostics, 2023, 13(4): 1355-1369. doi: 10.7150/thno.80544.
- [15] Lanskey JH, Jafarian A, Hughes LE, et al. Alzheimer's disease and memantine effects on NMDA-receptor blockade: non-invasive in vivo insights from magnetoencephalography[J]. Mol Psychiatry, 2026, 31(3): 1587-1596. doi: 10.1038/s41380-025-03288-3.
- [16] MacLean MA, Muradov JH, Greene R, et al. Memantine inhibits cortical spreading depolarization and improves neurovascular function following repetitive traumatic brain injury[J]. Sci Adv, 2023, 9(50): ead2417. doi: 10.1126/sciadv.ad2417.
- [17] Choi H, Hwang S, Cho H, et al. Memantine modulates neuroinflammation and motor coordination in a Parkinson's disease model[J]. Brain Res, 2025, 1869: 150034. doi: 10.1016/j.brainres.2025.150034.
- [18] Mastall M, Roth P, Bink A, et al. A phase Ib/II randomized, open-label drug repurposing trial of glutamate signaling inhibitors in combination with chemoradiotherapy in patients with newly diagnosed glioblastoma: the GLUGLIO trial protocol[J]. BMC Cancer, 2024, 24(1): 82. doi: 10.1186/s12885-023-11797-z.
- [19] Mohammadzadeh P, Shaseb E, Sanaat Z, et al. Memantine prophylaxis in docetaxel-induced neuropathy: randomised clinical trial in breast cancer[J]. BMJ Support Palliat Care, 2025, 15(6): 768-776. doi: 10.1136/spcare-2024-005337.
- [20] Li L, Zeng Q, Bhutkar A, et al. GKAP acts as a genetic modulator of NMDAR signaling to govern invasive tumor growth[J]. Cancer Cell, 2018, 33(4): 736-751. doi: 10.1016/j.ccell.2018.02.011.
- [21] Ghafouri-Asbagh A, Tabatabaei K, Vaez H, et al. Memantine, an NMDA receptor antagonist, attenuates doxorubicin-induced cardiac

- oxidative stress and inflammation in mouse 4T1 breast cancer model[J]. *Breast Cancer (Auckl)*, 2025, 19: 11782234251393421. doi:10.1177/11782234251393421.
- [22] Trotman M, Vermehren P, Gibson CL, et al. The dichotomy of memantine treatment for ischemic stroke: dose-dependent protective and detrimental effects[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(2):230–239. doi:10.1038/jcbfm.2014.188.
- [23] Zhou Y, Tang J, Weng M, et al. DRD4 interacts with TGF- β receptors to drive colorectal cancer metastasis independently of dopamine signaling pathway[J]. *Adv Sci*, 2025, 12(6):2413953. doi: 10.1002/advs.202413953.
- [24] Slović N, Mishra S, Paul S, et al. Chemoprevention of hepatocellular carcinoma by next-generation antipsychotic aripiprazole[J]. *Hepatology*, 2026. doi: 10.1097/hep.0000000000001719. [Online ahead of print]
- [25] Zhang H, Zhang L, Tang Y, et al. Systemic screening identifies GABRD a subunit gene of GABA_A receptor as a prognostic marker in adult IDH wild-type diffuse low-grade glioma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109215. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109215.
- [26] Yuan Y, Ping W, Zhang R, et al. DEPDC1B collaborates with GABRD to regulate ESCC progression[J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1):214. doi:10.1186/s12935-022-02593-z.
- [27] Ji T, Guo F, Zhang H, et al. GABRD as an emerging oncogene: exploring functions and therapeutic implications across cancers[J]. *Life*, 2026, 16(3):468. doi:10.3390/life16030468.
- [28] Albayrak G, Konac E, Dikmen AU, et al. Memantine induces apoptosis and inhibits cell cycle progression in LNCaP prostate cancer cells[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2018, 37(9): 953–958. doi: 10.1177/0960327117747025.
- [29] Mahboubi N, Shafiei-Irannejad V, Kahyaee_ghdam M, et al. Memantine enhances the cisplatin-induced apoptosis in A2780 ovarian cancer cells via CyclinD1 and hTERT inhibition[J]. *Process Biochem*, 2022, 122:69–75. doi:10.1016/j.procbio.2022.09.028.
- [30] Eladl O. Molecular glues and PROTACs in targeted protein degradation: mechanisms, advances, and therapeutic potential[J]. *Biochem Pharmacol*, 2025, 242: 117297. doi: 10.1016/j.bcp.2025.117297.
- [31] Dippon VN, Rizvi Z, Choudhry AE, et al. Identification of an allosteric site on the E3 ligase adapter cereblon[J]. *Nature*, 2026, 651(8105):482–490. doi:10.1038/s41586-025-09994-w.
- [32] Monti M, Picinoli S, Bozzola A, et al. Integrating interferon gamma receptor pathways, antigenicity, and immune contexture as predictors of immunotherapeutic strategies for mucosal melanomas[J]. *J Immunother Cancer*, 2026, 14(3): e012222. doi: 10.1136/jitc-2025-012222.
- [33] Zak J, Teijaro JR. Beyond suppression: the paradox of JAK inhibitors as amplifiers of cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2026. doi:10.1038/s41577-026-01266-6. [Online ahead of print]
- [34] Hu Z, Majeski HE, Mestre-Farrera A, et al. Extracellular matrix rigidity controls breast cancer metastasis via TYK2-mediated mechanotransduction[J]. *Nat Commun*, 2026. doi:10.1038/s41467-026-70518-9. [Online ahead of print]
- [35] Zhang W, Wang Y, Feng T, et al. DPP9 inhibition boosts antitumor immunity by disrupting BRIS-mediated PD-L1 expression in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Cell Death Differ*, 2026. doi: 10.1038/s41418-026-01704-x. [Online ahead of print]

(本文编辑 熊杨)

本文引用格式:黄城城, 刘维维, 李靖, 等. GABRD促进肝细胞癌恶性进展及美金刚靶向干预作用研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2026, 35(5):945–959. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.260218

Cite this article as: Huang CC, Liu WW, Li J, et al. GABRD promotes malignant progression of hepatocellular carcinoma and is a therapeutic target of memantine[J]. *Chin J Gen Surg*, 2026, 35(5):945–959. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.260218