

文章编号 1006-8147(2022)02-0115-08

论 著

基于网络药理学探讨党参、海藻“药对”治疗肝癌的作用机制及关键的靶点通路预测

刘婷婷¹, 李新², 杨冰², 田成旺², 徐旭², 李国霞¹

(1.天津医科大学国际医学院中西医结合教研室, 天津 300070; 2.天津药物研究院, 天津市中药质量标志物重点实验室, 天津 300301)

摘要 目的:运用网络药理学方法筛选党参、海藻“药对”治疗肝癌主要化学成分,预测其作用靶点及通路。方法:借助中药系统药理学分析数据库(TCMSP)、“中国知网”数据库检索党参、海藻“药对”的化学成分;TCMSP、PubChem、SEA 以及 Swiss Target Prediction 数据库检索化学成分的靶点;通过 TTD、人类孟德尔遗传数据库(OMIM)获取肝癌的相关作用靶点;运用 Cytoscape3.8.2 软件构建“党参、海藻-活性成分-靶点-肝癌”网络图;运用 STRING 数据库构建蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络图;采用 OmicsBean 数据库进行基因本体(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析;采用四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法(MTT 法)检测岩藻甾醇对人 HepG2 肝癌细胞增殖的抑制作用。结果:经数据库分析表明,党参的活性成分有 20 种、海藻 6 种,其中党参抗肝癌主要化合物是木犀草素、党参炔苷;海藻抗肝癌主要化合物是槲皮素、岩藻甾醇。党参、海藻“药对”化合物作用靶点共有 964 个,肝癌作用靶点有 486 个,化合物-肝癌共同作用靶点有 32 个,细胞表皮生长因子受体(EGFR)、蛋白激酶 B(AKT1)、血管内皮生长因子 A(VEGFA)与 TP53 为主要作用靶点。GO 功能富集分析主要涉及细胞增殖、程序性死亡、凋亡负调控和催化等多个生物过程;胞质、细胞器和细胞核等结构;蛋白质二聚的分子功能。KEGG 通路分析共得到信号通路 190 条,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)-AKT 为最主要的信号通路。MTT 检测显示,与空白对照组(0 mmol/L)相比,岩藻甾醇各剂量组细胞存活率明显降低,差异均有显著性(均 $P < 0.05$)。结论:党参、海藻“药对”是多靶点、多通路治疗肝癌,为后续深入研究党参、海藻“药对”治疗肝癌的作用机制奠定基础,初步证明岩藻甾醇可以抑制人 HepG2 肝癌细胞的增殖。

关键词 网络药理;党参、海藻“药对”;MAPK 信号通路;PI3K-AKT 信号通路

中图分类号 R96

文献标志码 A

Mechanism of and key target pathway prediction of *Codonopsis pilosula* and *Sargassum* in the treatment of liver cancer based on network pharmacology

LIU Ting-ting¹, LI Xin², YANG Bing², TIAN Cheng-wang², XU Xu², LI Guo-xia¹

(1.Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, International School of Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2.Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Tianjin Key Laboratory of Quality Markers of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300301, China)

Abstract Objective: To screen the main chemical constituents of *Codonopsis pilosula* and *Sargassum* "drug pair" in the treatment of liver cancer by the method of network pharmacology, and predict their action targets and pathways. **Methods:** The chemical constituents of *Codonopsis pilosula* and *Sargassum* were searched by TCMSP and China knowledge Network database; the chemical composition targets were searched by TCMSP, PubChem, SEA and Swiss Target Prediction databases; the related targets of liver cancer were obtained by TTD and OMIM databases; the network map of "*Codonopsis pilosula*, *Sargassum*-active ingredient-target-liver cancer" was constructed by Cytoscape3.8.2 software. Protein-protein interaction (PPI) network map was constructed by STRING database, gene ontology (GO) function enrichment analysis and Kyoto gene and genome encyclopedia (KEGG) signal pathway enrichment analysis were performed by Omics Bean database. The inhibitory effect of fucosterol on the proliferation of human HepG2 hepatoma cells was detected by tetrazolium salt microenzyme reaction colorimetry (MTT method). **Results:** The database analysis showed that there were 20 kinds of active components in *Codonopsis pilosula* and 6 species in *Sargassum*, among which the main anti-liver cancer compounds of *Codonopsis pilosula* were luteolin and obetololol, the main anti-liver cancer compounds of *Sargassum* were quercetin and fucosterol. There were 964 targets for drug pairs of *Codonopsis pilosula* and *Sargassum*, 486 targets for liver cancer and 32 targets for compound-liver cancer interaction. Epidermal growth factor receptor (EGFR), protein kinases B (AKT1), Vascular endothelial cell growth factor A (VEGFA) and TP53 were the main targets. GO functional enrichment analysis mainly involved many biological processes such as cell proliferation, programmed death, negative regula-

基金项目 国家重点研发计划(2019YFC1711300)

作者简介 刘婷婷(1995-),女,硕士在读,研究方向:中西医结合肿瘤学;通信作者:徐旭, E-mail:xux@tipr.com;李国霞, E-mail:liguoxia96@163.com。

tion and catalysis of apoptosis, the structure of cytoplasm, organelle and nucleus, and the molecular function of protein dimerization. A total of 190 signal pathways were obtained by KEGG pathway analysis. MAPK and PI3K-AKT were the most important signal pathways. MTT detection showed that the cell survival rate of each dose of fucosterol was significantly lower than that of the blank control group (0 mmol/L), and the difference was significant in a concentration-dependent manner. **Conclusion:** The "drug pair" of *Codonopsis pilosula* and *Sargassum* is a multi-target and multi-pathway in the treatment of liver cancer, which lays a foundation for the further study of the mechanism of the "drug pair" of *Codonopsis pilosula* and *Sargassum* in the treatment of liver cancer. It is preliminarily proved that fucosterol can inhibit the proliferation of human HepG2 hepatoma cells.

Key words network pharmacology; *Codonopsis pilosula*, *Sargassum*; MAPK signal pathway; PI3K-AKT signal pathway

肝癌是全球第 6 大最常见恶性肿瘤,我国是肝癌高发国家,每年全球肝癌新增病例约半数在中国。由于早期不易发现、不典型;晚期高转移、高复发的特点,导致肝癌死亡率极高,肝癌死亡率从 2018 年的第 3 位上升到 2020 年的第 2 位,仅次于肺癌^[1-2]。尽管传统的肝脏切除术、肝脏移植术、靶向治疗、放射介入和局部消融等新兴治疗手段的出现,使得肝癌的治疗效果不断提高,但肝癌发展迅速使得预后并不理想,因此寻找靶向清晰、高效低毒的新型抗肝癌药物是今后肝癌研究的重要任务。

《诸病源候论》积聚病诸候篇中“诸脏受邪,初未能成积聚,留滞不去,乃成积聚。”认为肝癌的发生是外感六淫邪气,内在机体虚损、情志内伤以及饮食不节等因素引起肝脾功能失调,寒积、痰浊、气滞、血瘀、湿邪热毒等实邪长期积聚形成^[3]。同时,正邪交争是癌症发生的关键,人体正气充足时能抵抗邪气的入侵,不会发生癌症,相反则会发生癌变。中医治疗原发性肝癌最常用的治法是“益气软坚”：“益气”即增强自身免疫以抵御外邪,“软坚”即软坚散结消炎,目的是从根本上扶助正气的同时祛除毒邪、消散肿瘤,改善机体邪盛正衰的状态^[4]。本次网络药理实验依据中医治疗肝癌法则之“益气软坚”,选用党参作为“益气”之用,海藻发挥“软坚”之功,探讨该“药对”治疗肝癌化学成分及其作用机制。

《本草从新》首载“党参”,属于上等之佳品,味甘、性平,归脾、肺二经,有补中益气、健脾益肺、养血生津之效。现代药理研究证实党参多糖可以抗肿瘤、提高免疫和抗疲劳等^[5-6]。海藻始见于《神农本草经》,味苦、咸,性寒,归肝、胃、肾经,有软坚、化痰、利水、消肿的功效^[7]。近年来,海藻在治疗各种肿瘤中显示出独特的优势,未来具有不错的发展前景^[8]。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药品 对照品岩藻甾醇(质量分数 $\geq 98\%$,批号 99718),粉末 4℃避光保存,购自美国 MCE 公司。

1.1.2 细胞株 人 HepG2 肝癌细胞,购自武汉普诺

赛生物科技有限公司。

1.1.3 试剂 DMEM 细胞培养基(批号 8121330)、胎牛血清(批号 2279804CP)、0.25%胰蛋白酶(批号 2186962)购自美国 Gibco 公司;100×青霉素-链霉素溶液(批号 C0222)购自碧云天生物技术有限公司;二甲基亚砜(DMSO,批号 D8371)购自索莱宝公司;四甲基偶氮唑蓝(MTT)粉剂(批号 MKCL9866)购自美国 Sigma 公司。

1.1.4 仪器 Multiskan Go 全自动酶标仪(美国 Thermo 公司);TDL80-2B 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂);CKX-41 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司);Series II 型二氧化碳培养箱(美国 Thermo 公司);Revco PLUS 型-80℃冰箱(美国 Thermo 公司);超微量移液器(美国 Thermo 公司);超净工作台(上海 Heal Force 公司);细胞计数板(上海市求精生化试剂仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 获取党参、海藻化学成分 本研究从中药系统药理分析数据库(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database,TCMSP)以及“中国知网”中获取党参、海藻化学成分。筛选条件是根据 TCMSP 数据库中药物动力学(absorption and distribution and metabolism and excretion, ADME)参数而定,以口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 、类药性指数(DL) ≥ 0.18 为条件,筛选符合的化学成分。由于 TCMSP 中收录的化学成分有局限性,另外采用文献挖掘的方法从“中国知网”中补充收集党参、海藻“药对”的化学成分。

1.2.2 获得党参、海藻化学成分的潜在作用靶点 (1)从 TCMSP 数据库得到活性成分的部分靶点。(2)从 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)得到活性成分的 Canonical SMILES,将其输入 SEA 数据库(<http://sea.bkslab.org/>)获得活性成分的部分靶点。(3)从《中药活性成分分析手册》中查到党参、海藻化学成分的结构,导入 Swiss Target Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)获得部分

靶点。去掉重复靶点,得到最终靶点。

1.2.3 检索肝癌的作用靶点 从 TTD (<http://bidd.nus.edu.sg/BIDD-Databases/TTD/TTD.asp>) 或 OMIM 数据库 (<http://www.omim.org/>) 中搜集与肝癌相关的靶点,输入“Liver cancer”、“Human hepatocellular carcinoma”等关键词进行搜索,取得分 ≥ 0.4 的靶点。将挖掘得到的肝癌相关基因与党参、海藻“药对”靶点基因互相映射,获得党参、海藻“药对”治疗肝癌的作用靶点。

1.2.4 构建党参、海藻-化合物-靶点-肝癌网络 使用 Cytoscape3.8.2 软件来构建党参、海藻-化合物-靶点-肝癌的可视化网络,预测化合物和靶点之间的关系。网络中的节点(node)表示党参、海藻、肝癌、化合物以及靶点,以边(edge)表示药物化合物与靶点之间的联系,靶点是肝癌与活性成分共有的靶点。

1.2.5 党参、海藻“药对”与肝癌作用靶点 PPI 网络构建 将关键靶点在 STRING 在线分析平台 (<https://string-db.org/>) 构建蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络,最低相互作用评分设为“medium confidence”(>0.4),选择隐藏游离节点,其他保持默认值,限定研究物种为“Homo sapiens”,最后 Cytoscape3.8.2 软件以度值为标准构建蛋白互作网络。

1.2.6 GO 生物功能、KEGG 通路富集分析 运用 OmicsBean 数据库 (<http://www.omicsbean.cn/>) 获得 32 个靶点蛋白的基因本体(GO)功能及基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,GO 富集分析的结果有 3 大类,分别为“蓝色”生物过程(BP)、“红色”细胞化合物(CC)和“黄色”分子功能(MF)。以 $P < 0.05$ 为限定条件,从基因生物功能与信号通路角度进一步明确党参、海藻“药对”对治疗肝癌的作用机制。

1.2.7 细胞培养 人 HepG2 肝癌细胞培养于 DMEM 完全培养基,5%CO₂、饱和湿度的 37℃ 恒温培养箱中生长。生长至对数生长期且状态良好时,用胰蛋白酶消化传代,进行后续实验。

1.2.8 MTT 法检测岩藻甾醇对人 HepG2 肝癌细胞增殖的影响 96 孔板中每孔接种 100 μ L HepG2 细胞悬液,继续生长至约 40% 时加入不同浓度的岩藻甾醇溶液(0、0.06、0.12、0.24 mmol/L),每组设 6 个复孔,处理 24 h,每孔加 5 mg/mL MTT 溶液 20 μ L,孵育 4 h,DMSO 振荡摇匀 10 min,测 490 nm 处的吸光度(A₄₉₀值),重复 3 次。计算各组岩藻甾醇溶液对 HepG2 细胞的抑制率: $(1 - A_{\text{给药组}}/A_{\text{空白对照组}}) \times 100\%$ 。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件实现数据的统计分析,计数资料用 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验,计量资料进行正态性检验,符合正态分布的

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 获取党参、海藻化学成分 从 TCMSP、中国知网中获得党参、海藻化合物成分 29 种,剔除 3 个未查询到靶点的化合物,剩余 26 种活性化合物,其中党参 20 种、海藻 6 种,未有重复成分,化合物信息见表 1。

表 1 党参 20 种、海藻 6 种化学成分基本信息

Tab 1 Basic information of chemical constituents of 20 species of *Codonopsis pilosula* and 6 species of *Sargassum*

序号	编号	化学成分	来源
1	MOL001006	Chondrillasterol	党参
2	MOL002140	Perlolryrine	党参
3	MOL002879	Diop	党参
4	MOL003036	ZINC03978781	党参
5	MOL000449	Stigmasterol	党参
6	MOL003896	7-Methoxy-2-methyl isoflavone	党参
7	MOL005321	Frutinine A	党参
8	MOL000006	luteolin	党参
9	MOL006554	Taraxerol	党参
10	MOL006774	stigmast-7-enol	党参
11	MOL007059	3-beta-Hydroxymethylenetanshinone	党参
12	MOL007514	methyl icos-11, 14-dienoate	党参
13	MOL008393	7-(beta-Xylosyl)cephalomannine_qt	党参
14	MOL008397	Daturilin	党参
15	MOL008400	glycitein	党参
16	MOL008407	Stigmasterone	党参
17	MOL008411	11-Hydroxyrankinidine	党参
18	文献中筛出	Lobetyolin	党参
19	文献中筛出	Syringin	党参
20	文献中筛出	Atractylenolide III	党参
21	MOL010578	N-benzamide	海藻
22	MOL010580	Diglycoldibenzoate	海藻
23	MOL005440	Isofucosterol	海藻
24	MOL000098	quercetin	海藻
25	文献中筛出	Fucosterol	海藻
26	文献中筛出	Fucoidan	海藻

2.2 获得党参、海藻化学成分的潜在作用靶点 通过 TCMSP、SEA、Swiss Target Prediction 数据库检索 29 种活性化合物潜在的相关靶点,收集到靶点党参有 978 个,海藻有 839 个,去除重复后得到靶点 964 个。

2.3 检索肝癌的作用靶点 通过 TTD、OMIM 数据库,共获得与肝癌相关的 486 个靶点。党参、海藻“药对”治疗肝癌的共同潜在作用靶点有 32 个,见表 2。

表 3 蛋白度值表(按由大到小筛选出前 10 位)
Tab 3 Protein value table (the top 10 are screened from large to small)

蛋白	度值
EGFR	24
AKT1	23
VEGFA	22
TP53	22
STAT3	21
EGF	21
CASP3	20
MYC	20
IGF1R	19
KDR	18

2.6 GO 集分析和 KEGG 分析党参、海藻“药对”的 32 个共同潜在靶点在信号通路中的作用 筛选 BP、CC 和 MF 的前 10 个富集条件作图,其中 BP(生物学过程)涉及细胞增殖、程序性死亡调节、凋亡过

程负调控和催化调节等多个生物过程,基因占比均>50%;CC(细胞化合物)涉及胞质、细胞器以及细胞核等细胞结构,胞质占比最高,除膜筏、核染色区占比较低之外,其他基因占比均在 40%以上;MF(分子功能)涉及最关键的是蛋白质二聚活性,基因占比约 90%左右(图 3、表 4)。此外党参、海藻“药对”治疗肝癌的 KEGG 分析,根据 P 值和分数筛选出前 10 条 KEGG 通路($P<0.05$),其中信号通路包括癌症通路、MAPK 信号通路、PI3K-AKT 信号通路和 Ras 信号通路等,疾病通路有乙型肝炎、丙型肝炎、肝癌、结直肠癌等,其中 MAPK 和 PI3K-AKT 是最关键的两条通路(表 5、图 4),图 4 中 P 值越小,圆圈越大,关联度越大,颜色越深。

2.7 岩藻甾醇对人 HepG2 肝癌细胞增殖的影响如表 6 所示,与空白对照组(0 mmol/L)相比,岩藻甾醇各剂量组细胞存活率明显降低,差异均有显著性(均 $P<0.05$)。

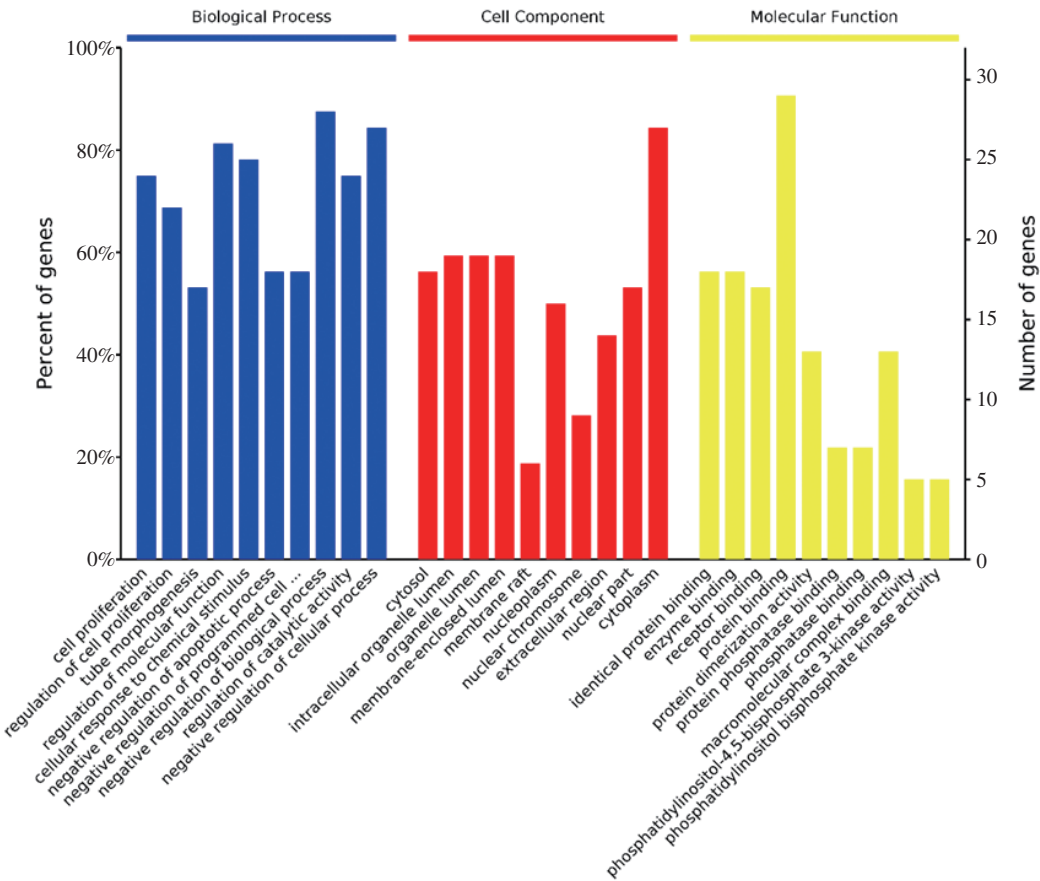


图 3 党参、海藻“药对”治疗肝癌的潜在靶点 GO 富集分析柱状图
Fig 3 Histogram of GO enrichment analysis of potential targets of "drug pair" of *Codonopsis pilosula* and *Sargassum* in the treatment of liver cancer

表 4 党参、海藻“药对”治疗肝癌潜在靶点 GO 富集结果(各前 10 条)

Tab 4 GO enrichment results of potential targets of *Codonopsis pilosula* and *Sargassum* "drug pairs" in the treatment of liver cancer (top 10 each)

GO-ID	基因功能名称(英文)	基因功能名称(中文)	类别
GO:0008283	cell proliferation	细胞增殖	BP
GO:0042127	regulation of cell proliferation	细胞增殖的调控	BP
GO:0035239	tube morphogenesis	管子形态发生	BP
GO:0065009	regulation of molecular function	分子功能的调节	BP
GO:0070887	cellular response to chemical stimulus	细胞对化学刺激的反应	BP
GO:0043066	negative regulation of apoptotic process	对凋亡过程的负调控	BP
GO:0043069	negative regulation of programmed cell death	程序性细胞死亡的负调控	BP
GO:0048519	negative regulation of biological process	生物过程的负调控	BP
GO:0050790	regulation of catalytic activity	催化活性的调节	BP
GO:0048523	negative regulation of cellular process	对细胞过程的负调控	BP
GO:0005829	cytosol	胞浆	CC
GO:0070013	intracellular organelle lumen	细胞内细胞器管腔	CC
GO:0043233	organelle lumen	细胞器腔	CC
GO:0031974	membrane-enclosed lumen	膜封闭管腔	CC
GO:0045121	membrane raft	膜筏	CC
GO:0005654	nucleoplasm	核质	CC
GO:0000228	nuclear chromosome	核染色体	CC
GO:0005576	extracellular region	胞外区	CC
GO:0044428	nuclear part	Nuclear 零件	CC
GO:0005737	cytoplasm	胞质	CC
GO:0042802	identical protein binding	相同蛋白结合	MF
GO:0005102	receptor binding	受体结合	MF
GO:0005515	protein binding	蛋白结合	MF
GO:0046983	protein dimerization activity	蛋白质二聚活性	MF
GO:0019903	protein phosphatase binding	蛋白磷酸酶结合	MF
GO:0019902	phosphatase binding	磷酸酶结合	MF
GO:0044877	macromolecular complex binding	高分子络合物结合	MF
GO:0046934	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase activity	磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶活性	MF
GO:0052813	phosphatidylinositol bisphosphate kinase activity	磷脂酰肌醇二磷酸激酶活性	MF

表 5 党参、海藻“药对”治疗肝癌潜在靶点 KEGG 富集分析(前 10 条)

Tab 5 KEGG enrichment analysis of potential targets of *Codonopsis pilosula* and *Sargassum* "drug pair" in the treatment of hepatocellular carcinoma (Top 10)

通路中文名称	通路英文名称	通路 ID	P	总数
癌症中的通路	Pathways in cancer	hsa05200	2.85E-17	20
MAPK 信号通路	MAPK signaling pathway	hsa04010	1.86E-14	15
PI3K-AKT 信号通路	PI3K-AKT signaling pathway	hsa04151	1.14E-10	13
乙型肝炎	Hepatitis B	hsa05161	1.88E-13	12
蛋白多糖与癌症	Proteoglycans in cancer	hsa05205	3.16E-12	12
RAS 信号通路	Ras signaling pathway	hsa04014	3.07E-10	11
丙型肝炎	Hepatitis C	hsa05160	1.14E-10	10
肝细胞癌	Hepatocellular carcinoma	hsa05225	2.54E-10	10
EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药性	EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	hsa01521	6.47E-12	9
结直肠癌	Colorectal cancer	hsa05210	1.42E-11	9

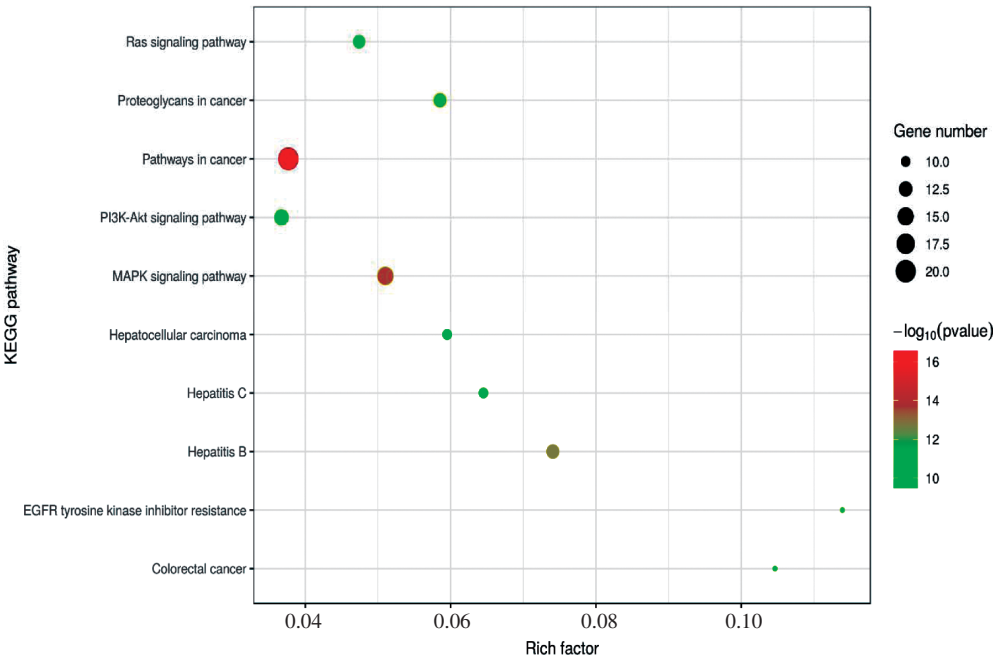


图 4 党参、海藻“药对”治疗肝癌 KEGG 通路富集分析气泡图
Fig 4 Bubble diagram of KEGG pathway enrichment analysis of *Codonopsis pilosula* and *Sargassum* "drug pair" in the treatment of hepato-cellular carcinoma

表 6 岩藻甾醇对人 HepG2 肝癌细胞增殖抑制率的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)
Tab 6 Effect of fucosterol on proliferation inhibition rate of human HepG2 hepatoma cells($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	浓度 (mmol/L)	OD 值(A490 nm)	细胞增殖抑制率 (%)
空白对照组	0	0.368±0.009	0
	0.06	0.312±0.011	15.10±3.10*
岩藻甾醇组	0.12	0.270±0.011	26.46±2.45*
	0.24	0.253±0.018	31.22±1.67*

注:与空白对照组相比,* $P<0.05$

3 讨论

党参、海藻“药对”抗肝癌网络药理实验获得 4 种有后续研究意义的化合物,依次为木犀草素、党参炔苷、槲皮素、岩藻甾醇。木犀草素与槲皮素是大多数中药普遍含有的活性化学物质,目前已有许多文献报道其有抗肿瘤作用,对于肝癌也有不错的治疗效果。党参炔苷是党参的主要代表成分,海藻多糖由于种类繁多且结构非常复杂,TCMSP 数据库并未收入,因此岩藻甾醇作为海藻主要代表成分,目前还未有文献报道显示党参炔苷与岩藻甾醇可以抗肝癌,本次网络药理预测结果显示党参炔苷与岩藻甾醇对于肝癌的治疗有一定的作用;EGFR、AKT1、VEGFA 与 TP53 等为主要作用靶点;MAPK 和 PI3K-AKT 等为最主要的信号通路。

木犀草素(Luteolin)是一种天然黄酮类化合物,主要存在于十字花科、天南星科、伞形科等药物和蔬菜中,有抗肝癌作用^[9]。槲皮素(Quercetin)广泛存在于各种食品中,功效有抗氧化、抗炎症、抗肿瘤等^[10],据报道显示槲皮素可以抑制人肝癌 HepG2 细胞增殖和迁移^[11]。岩藻甾醇(Fucosterol)是从褐藻中提取的一种成分,研究表明岩藻甾醇可诱导卵巢癌细胞分化、抑制细胞增殖^[12],目前尚未有抗肝癌的报道。党参炔苷(Lobetyolin)是一种聚乙炔糖苷,在党参属植物中含量较高,实验证明党参炔苷呈剂量依赖性(10~40 $\mu\text{mol/L}$)抑制体外培养的 HCT116 结肠癌细胞的增殖,并诱导 caspase 依赖性的凋亡^[13],目前党参炔苷尚未有抗肝癌的报道。

EGFR 是一种酪氨酸激酶,其过表达与肿瘤发生、发展密切相关,可作用于下游相关信号通路来调节肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移^[14]。AKT1 是 PI3K/AKT 信号通路重要的下游靶标^[15]。AKT1 可通过抑制细胞凋亡而促使细胞存活,AKT1 被磷酸化激活预示着肝癌细胞有侵袭性^[16]。VEGFR 参与血管相关细胞的分裂、增殖和迁移,肿瘤血管的形成是诱发肿瘤侵袭和转移的必要步骤^[17]。TP53 是一种抑癌基因,若该基因发生突变将会促进肿瘤发展,同时细胞分化、细胞凋亡、血管生成和抑制转移等也会随之相应

改变^[18]。目前槲皮素、木犀草素均被发现可抑制人肝癌细胞中 AKT1 蛋白的磷酸化激活,诱导细胞凋亡^[19-20]。研究显示^[21-22],槲皮素、木犀草素可激活 P53 信号通路中 TP53 抑癌基因,造成胰腺癌、肝癌和结肠癌肿瘤细胞凋亡。岩藻甾醇与党参炔苷未有相关研究证实是通过以上分子发挥作用,今后还需不断探索。

MAPK 信号通路包括 ERKs、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)和 p38MAPK 介导通路^[23]。研究证明 ERKs、JNK 和 p38MAPK 信号通路都能引起 HepG2 细胞 G2/M 周期阻滞,从而起到抗肝癌细胞增殖的效果^[24]。PI3K/AKT 信号通路对细胞凋亡发挥着重要调控作用^[25]。诸多研究将 PI3K/AKT 信号通路作为治疗慢性肝病的重要靶标^[26]。孙佳等^[27]证明槲皮素能下调肝癌细胞 PI3K/AKT 通路,增强凋亡因子、降低抗凋亡蛋白的活性,从而促使肝癌细胞凋亡,发挥抗肝癌的作用。

综上所述,党参、海藻治疗肝癌是多成分、多靶点、多生物过程而实现的,体现了中医药治病的整体理念,为后续相关研究提供实验依据。本实验通过 MTT 法初步验证岩藻甾醇可以抑制 HepG2 肝癌细胞增殖,且与浓度呈正相关。后期将以上实验结果为基础,继续通过细胞和动物实验深入研究,为党参、海藻药对抗肝癌提供扎实有力的实验依据。

参考文献:

- [1] CAO W, CHEN HD, YU Y W, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(7): 783-791.
- [2] 汪根树. 利用综合治疗措施进一步提高肝癌肝移植疗效[J]. *器官移植*, 2021, 12(3): 249-256.
- [3] 庄桐桩, 陈钰冰, 安海燕. 原发性肝癌中医辨证探讨[J]. *国医论坛*, 2021, 36(1): 18-19.
- [4] 王靖思, 孙桂芝, 赵杰. 孙桂芝“益气活血软坚解毒法”论治原发性肝癌经验介绍[J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(1): 112-114.
- [5] CHONG X, YANG L, GUANG X Y, et al. The contribution of side chain to antitumor activity of a polysaccharide from *Codonopsis pilosula*[J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 50(4): 891-894.
- [6] 张雅君, 梁忠岩, 张丽霞. 党参粗多糖的组成及其免疫活性研究[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2012, 40(7): 199-202.
- [7] 曹琰, 段金廛, 范欣生, 等. 海藻药性与应用特点探析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(23): 233-238.
- [8] ALI SHAH S A. 从海藻和植物中发现抗菌和抗肿瘤活性化合物[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [9] 杨培伟, 张树辉. 木犀草素抗肝细胞癌作用及机制的研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2018, 34(1): 190-193.
- [10] 舒心, 郭擎, 高彦祥. 槲皮素及其传递体系的研究进展[J/OL]. *食品科学*: 1-16 [2021-08-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210322.1254.028.html>.
- [11] 刘庆东, 白跳艳, 王晔飞, 等. 迷迭香酸联合槲皮素对人肝癌 HepG2 细胞增殖和迁移的影响[J]. *安徽医药*, 2020, 24(9): 1705-1707.
- [12] 杨玲, 郑超群, 吴福珍, 等. 岩藻甾醇对卵巢癌细胞抑制作用的体外研究[J]. *北方药学*, 2020, 17(5): 145-146.
- [13] CHRISTIAN B. Anticancer properties of Lobetyolin, an essential component of *radix codonopsis* (Dangshen)[J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2020, 4(3): 1-11.
- [14] NICOLE M J, BRIAN P C. Protein kinase G facilitates EGFR-mediated cell death in MDA-MB-468 cells[J]. *Exp Cell Res*, 2016, 346(2): 224-232.
- [15] 陈晶. 靶向封闭 AKT1 抑制肝癌细胞增殖和迁移的研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2017.
- [16] IM E, YEO C, LEE E O. Luteolin induces caspase-dependent apoptosis via inhibiting the AKT/osteopontin pathway in human hepatocellular carcinoma SK-Hep-1 cells[J]. *Life Sci*, 2018, 20(9): 259-266.
- [17] 王光宇. miR-16-5p 靶向 VEGFA 抑制 HepG2 肝癌细胞增殖、侵袭及迁移的研究[D]. 皖南医学院, 2020.
- [18] 谢林峰, 向俊蓓, 姜欣. 突变 p53 在肿瘤发生过程中的功能研究与进展[J]. *中国医学创新*, 2020, 17(24): 169-172.
- [19] IM E, YEO C, LEE E O. Luteolin induces caspase-dependent apoptosis via inhibiting the AKT/osteopontin pathway in human hepatocellular carcinoma SK-Hep-1 cells[J]. *Life Sci*, 2018, 209: 259-266.
- [20] Ana Belén G S, Angeles M M, Laura B, et al. Quercetin induces apoptosis via caspase activation, regulation of Bcl-2, and inhibition of PI-3-kinase/Akt and ERK pathways in a human hepatoma cell line (HepG2)[J]. *J Nutr*, 2006, 136(11): 2715-2721.
- [21] 张红娜, 邹佳楠, 李昆, 等. 基于网络药理学推测和分子生物学验证探讨半枝莲抗胰腺癌的活性成分及其作用机制[J]. *中草药*, 2020, 51(12): 3234-3245.
- [22] 朱恒舟, 桑天庆, 季漪, 等. 基于消癌解毒方中白花蛇舌草有效成分治疗肿瘤的靶点研究[J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(5): 132-135, 276-277.
- [23] MAO Z, SHEN X, DONG P, et al. Fucosterol exerts antiproliferative effects on human lung cancer cells by inducing apoptosis, cell cycle arrest and targeting of Raf/MEK/ERK signaling pathway[J]. *Phytomedicine*, 2019, 16(1): 152809.
- [24] 王辉, 杨蕾, 孔令义. 洛克米兰醇对肝癌 HepG2 细胞的抗增殖作用及其机制研究[J]. *中草药*, 2020, 51(16): 4208-4216.
- [25] 胡惠清, 李静, 方坤, 等. 蛇床子素通过 PI3K-AKT 信号通路诱导 HaCaT 细胞凋亡的研究[J]. *中国中医急救*, 2019, 28(1): 21-24.
- [26] 李莹, 叶永安, 李志国, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨抗纤维抑癌方干预肝癌前病变的作用机制[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2019, 29(3): 240-243.
- [27] 孙佳, 赵冬耕, 王明艳, 等. 槲皮素对 SMMC-7721 肝癌细胞 PI3K/AKT 信号通路影响的探讨[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(18): 223-226.

(2021-07-22 收稿)