

## 莪术油对卵巢癌 VEGFA, STAT3, mTOR 的调控机制

曹知勇<sup>1,2</sup>, 陈静芹<sup>1</sup>, 吕挺<sup>2</sup>, 施朝佳<sup>1</sup>, 冯秋瑜<sup>1\*</sup>, 方刚<sup>3\*</sup>

(1. 广西中医药大学 广西壮医应用基础研究重点实验室, 南宁 530001;

2. 湖北民族大学 医学部, 湖北恩施 445000;

3. 广西中医药大学 附属瑞康医院, 南宁 530001)

**[摘要]** **目的:**观察莪术油对卵巢癌血管内皮生长因子A(VEGFA)/信号转导及转录激活因子3(STAT3)/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的影响,探讨莪术油及其活性成分作用于卵巢癌 VEGFA, STAT3, mTOR 的效应机制。**方法:**利用网络药理学技术分析莪术作用与卵巢癌的作用机制,生物信息学分析 VEGFA, STAT3, mTOR 在卵巢癌中的表达情况及对卵巢癌预后的影响,以此探究莪术油干预卵巢癌 VEGFA, STAT3, mTOR 的可行性。建立裸鼠移植瘤模型,利用苏木素-伊红(HE),实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR),蛋白免疫印迹法(Western blot)及免疫组化检测莪术油及其活性成分对卵巢癌 VEGFA, STAT3, mTOR 的影响。**结果:**生物信息学分析和文献研究显示,VEGFA, STAT3, mTOR 在卵巢癌的发生发展中起到了特殊的调控作用,并可能是卵巢癌增殖的关键靶点。网络药理学分析显示,莪术能调控卵巢癌的多个疾病靶点,并能通过这多个靶点调控卵巢癌中的 VEGFA, STAT3, mTOR。各组卵巢癌瘤体组织 HE 染色显示,模型组瘤体组织肿瘤细胞分布致密,内部无囊泡。与模型组比较,其他给药组细胞密度缩小,瘤体组织内部也出现了一些较小的空囊泡;其中以莪术油组为最。与模型组比较,莪术油及其活性成分能够抑制卵巢癌瘤体组织中 VEGFA, STAT3, mTOR mRNA 和蛋白的表达( $P < 0.05$ )。**结论:**莪术油及其活性成分能降低卵巢癌模型裸鼠瘤体组织中 VEGFA, STAT3, mTOR 的表达,可能是通过 VEGFA, STAT3, mTOR 来达到抑制卵巢癌增殖的。

**[关键词]** 莪术油; 卵巢癌; 莪术醇; 莪术酮; 血管内皮生长因子A(VEGFA); 信号转导及转录激活因子3(STAT3); 雷帕霉素靶蛋白(mTOR)

**[中图分类号]** R2-0;R22;R285.5;R737.31 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)14-0070-11

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211491

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20210524.1512.002.html>

**[网络出版日期]** 2021-05-25 19:29

### Regulatory Mechanism of Zedoary Turmeric Oil on VEGFA, STAT3 and mTOR in Ovarian Cancer

CAO Zhi-yong<sup>1,2</sup>, CHEN Jing-qin<sup>1</sup>, LYU Ting<sup>2</sup>, SHI Chao-jia<sup>1</sup>, FENG Qiu-yu<sup>1\*</sup>, FANG Gang<sup>3\*</sup>

(1. Key Laboratory of Applied Basic Research of Guangxi Zhuang Medicine,

Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

2. Medical School, Hubei Minzu University, Enshi 445000, China;

3. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effects and mechanism of zedoary turmeric oil and its active components on the vascular endothelial growth factor A (VEGFA), signal transducer and activator of

**[收稿日期]** 20210227(001)

**[基金项目]** 广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA294115, 2018GXNSFAA050064);广西壮族自治区卫生健康委员会壮医应用基础研究重点实验室项目(桂卫科教发[2020]17号);广西医学高层次骨干人才培养“139”计划项目(桂卫科教发[2020]15号)

**[第一作者]** 曹知勇,在读硕士,从事中医药、民族医药防治妇科杂病的研究,E-mail:caozhiyong2019@163.com

**[通信作者]** \*冯秋瑜,副教授,硕士生导师,从事中医民族医教研及养生保健研究,E-mail:qiuyufeng8888@126.com;

\*方刚,教授,硕士生导师,从事中药药理、壮医药、中医妇科研究,E-mail:fglzyzn@yeah.net

transcription 3 (STAT3), and mechanistic target of rapamycin (mTOR) in the ovarian cancer (OC). **Method:** Network pharmacology technology was employed to analyze the mechanism of Curcumae Rhizoma on OC. Bioinformatics was used to analyze the expression of VEGFA, STAT3, and mTOR in OC and the effect on the prognosis of OC to explore the feasibility of zedoary turmeric oil in regulating VEGFA, STAT3, and mTOR in OC. The xenograft tumor model of nude mice was established, and the effects of zedoary turmeric oil and its active components on VEGFA, STAT3, and mTOR in OC were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, real-time fluorescence-based quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR), Western blot, and immunohistochemistry (IHC). **Result:** Bioinformatics analysis and literature research showed that VEGFA, STAT3, and mTOR played a special regulatory role in the occurrence and development of OC, and were potential key targets for the proliferation of OC. Network pharmacology analysis revealed that Curcumae Rhizoma could regulate multiple disease targets of OC, and mediate VEGFA, STAT3, and mTOR in OC through these multiple targets. As demonstrated by HE staining, the tumor cells in the model group were densely arranged, with no erosion on the edge and no vesicles inside. Compared with the model group, the cell density in other treatment groups was reduced, and strip-shaped erosion on the edge and small empty vesicles were observed in the tumor tissue, especially in the zedoary turmeric oil group. According to the results of Real-time PCR and IHC, zedoary turmeric oil and its active components could inhibit the mRNA and protein expression of VEGFA, STAT3, and mTOR in the OC tissue ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Zedoary turmeric oil and its active components could reduce the expression of VEGFA, STAT3, and mTOR in tumor tissue of nude mice, and inhibited the proliferation of OC through VEGFA, STAT3, and mTOR.

**[Keywords]** zedoary turmeric oil; ovarian cancer (OC); curcumol; curgerenone; vascular endothelial growth factor A (VEGFA); signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3); mechanistic target of rapamycin (mTOR)

卵巢癌(OC)是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一,发病率仅次于宫颈癌和子宫内膜癌<sup>[1]</sup>,由于其早期临床症状并不明显,其死亡率最高<sup>[2]</sup>。随着紫杉醇联合铂类化疗、腹腔内化疗和降低风险手术的发展,上皮性OC的疗效获得了提高,但由于化疗耐药性的产生,总体5年生存率未见明显提升<sup>[3]</sup>。且化疗的不良反应极大,预后也差,因此寻找治疗OC的新方法及新策略具有重要意义。

近年来,中医药在治疗OC方面取得了长足的发展,尤其是中药民族药注射液的应用。优势在于可以配合手术治疗、化学治疗、预防复发等多个方面,并均有较好的临床疗效<sup>[4-9]</sup>。莪术油是大品种、经典的中药民族药注射液,含有较高的莪术醇、莪术二酮等<sup>[10-11]</sup>。其临床应用广泛,近年来治疗肿瘤取得了肯定的疗效<sup>[12]</sup>。其中,以莪术油及其活性成分莪术醇、榄香烯等抗宫颈癌,OC,子宫内膜癌等妇科肿瘤是莪术油抗肿瘤研究的热点。现代研究认为莪术油及其活性成分是莪术发挥抗癌作用的重要有效成分<sup>[10]</sup>,但其抗肿瘤机制却尚未完全明确。

本课题组长期从事莪术油及其活性成分对OC的调控机制研究。结合现有研究发现血管内皮生

长因子A(VEGFA),信号转导及转录激活因子3(STAT3),雷帕霉素靶蛋白(mTOR)能促进OC的发生发展<sup>[13-15]</sup>,但是对于OC体内实验——OC移植瘤的研究并不多。本实验就莪术油对OC移植瘤中VEGFA,STAT3,mTOR的影响进行探讨,以期能为今后中医药治疗OC提供新的研究思路和方法。

## 1 材料

**1.1 动物** 实验动物为雌性SPF级BALB/c裸鼠40只,合格证号SCXK(湘)2019-0014,4~6周龄,体重18~20g,动物饲养于广西中医药大学科学实验中心SPF级屏障系统内,采取自由采食、自由饮水的喂养方式,实验前适应性喂养1周。本实验通过广西中医药大学实验动物福利伦理委员会批准,伦理批准编号DW20210311-059。

**1.2 细胞株** 人OC细胞株(SKOV3细胞)购自中国科学院细胞库,培养于含10%的胎牛血清,  $1 \times 10^5 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ 青霉素和  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 链霉素的RPMI-1640培养液中,  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中孵育培养。

**1.3 药品与试剂** 莪术油(北纳生物科技有限公司,批号111544);莪术醇(含量分析99.72%)紫杉醇(含量分析98.80%),莪术酮(含量分析 $\geq 98\%$ )(上海

慧嘉生物有限公司,批号分别为DST190315-007, DST190824-008, CFN99187)。trizol试剂(美国Ambion公司,批号267309);RevertAid First Strand cDNA Synthesis试剂盒(美国Thermo公司,批号00337483 #K1622);SYBR green Master Mix[上海Thunderbird公司,批号QPS-201(-)];VEGFA, STAT3, mTOR,  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)(内参)抗体(美国Abcam公司,批号分别为ab134191, ab68153, ab134903, ab257217);青链霉素混合液(100 $\times$ ),胰蛋白酶-EDTA消化液(0.25%),丙烯酰胺/30%制胶液,4 $\times$ 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)浓缩胶缓冲液,4 $\times$ SDS-PAGE分离胶缓冲液,10%PAGE胶凝固剂,转膜液,电泳液,二抗稀释液(索莱宝科技有限公司,批号分别为40134, T1300-100, BL513B, S1052-500, S1051-500, A1030, D1060-500, T1070, BL536A);RPMI1640培养基,141澳洲胎牛血清(美国Gibco公司,批号分别为C11875500BT, 40334)。

**1.4 仪器** Direct-Q5uv型超纯水系统[密理博(中国)有限公司];HHS-112型电热恒温水浴锅, YA28X-4T型立式压力蒸汽灭菌锅(上海博讯实业有限公司医疗设备);单道可调移液器, MiniSpir型迷你离心机, 5810R型高速台式冷冻离心机(德国Eppendorf公司);BD23型小型精密恒温箱, BINDER CB型细胞培养箱(德国Binder公司);DMI8型普通倒置显微镜, BX53型正置显微镜(德国徕卡公司);PowerPac HC型垂直电泳仪(美国Bio-Rad公司);罗氏LightCycler96型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(瑞士罗氏诊断产品有限公司);AR224CN型电子分析天平[奥豪斯仪(上海)有限公司];XW-80A型漩涡震荡器(海南省其林贝尔仪器制造有限公司);RCT Basic型磁力搅拌器(艾卡广州仪器设备有限公司);DW86290型低温保存箱(澳柯玛股份有限公司);HYC360型医用冷藏柜(青岛海尔股份有限公司);FluorChem E型凝胶成像系统(美国Alpha公司);Infinite M200 pro多功能微孔板检测仪(瑞士帝肯贸易有限公司)。

## 2 方法

**2.1 通过网络药理学筛选出莪术干预OC的靶点基因**

**2.1.1 通过网络药理学筛选出莪术干预OC的靶点基因** 化合物应用于机体,应具备良好的类药性(DL)和生物利用度(OB),莪术油是莪术的提取物,莪术油的有效成分来自于莪术。故采用以莪术为

关键词在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库中搜索,筛选可利用的活性成分。

**2.1.2 疾病靶点的筛选与药物-靶点基因-疾病可视化网络的建立** 登录GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)和在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM) (<https://www.omim.org/>),输入ovarian cancer,查找OC相关基因,排除相同项,与莪术油及其活性成分能作用的靶点进行比对,导入Cytoscape 3.7.1软件构建药物-靶点基因-疾病可视化图像分析。

**2.2 生物信息学探讨莪术通过VEGFA, STAT3, mTOR干预OC的分子机制**

**2.2.1 VEGFA, STAT3, mTOR与OC的相关性分析** 将VEGFA, STAT3, mTOR与OC疾病基因比对,确认3个因子是否为OC的疾病基因,再将VEGFA, STAT3, mTOR导入STRING数据库(<https://string-db.org/>),进行蛋白质相互作用(PPI)分析,最后将VEGFA, STAT3, mTOR导入Kaplan Meier-Plotter数据库(<https://kmplot.com/analysis/>)对3个靶点基因进行OC线上极限乘积法生存分析。

**2.2.2 VEGFA, STAT3, mTOR与莪术-OC共同靶点的相关性分析** 将莪术-OC共同靶点与加入VEGFA, STAT3, mTOR的共同靶点分别导入STRING数据库(<https://string-db.org/>)做PPI蛋白互作网络图进行对比。

**2.2.3 VEGFA, STAT3, mTOR和共同靶点的基因功能分析** 将靶点导入DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行基因功能富集分析,根据( $P < 0.05$ )进行筛选,进行生物信息功能和信号通路富集分析。

**2.3 细胞培养** 采用贴壁培养法。使用含10%新生牛血清及青霉素、链霉素的PRMI 1640培养液,置于37 $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ 培养箱培养下培养。当细胞融合密度达到80%时,以0.25%的胰酶消化、分离制成细胞悬液,按1:3~1:2的比例移入新培养瓶中。

**2.4 实验分组** 将48只裸鼠随机挑选8只,作为空白组(K组);其余裸鼠均腋下种植人OC SKOV3细胞造模。造模成功后随机分为模型组(M组)、紫杉醇组(Z组)、莪术油组(Y组)、莪术醇组(C组)、莪术酮组(T组),每组8只,并进行给药干预。

**2.4.1 人OC裸鼠休眠模型的建立** 取对数生长长期的人SKOV3细胞,用PRMI 1640调整细胞浓度为 $1 \times 10^7$ 个/mL,以每只0.1 mL接种于造模组小鼠右侧腋下,每天观察并记录裸鼠肿瘤生长情况,游

标卡尺测定肿瘤大小,达到给药大小时,即分组给药。

**2.4.2 各组处理办法** 各组裸鼠均称质量,常规饲养。干预方式为瘤旁皮下注射药物(注射方法同造模方法),从成瘤最大径达0.3 cm起,每2 d注射1次,持续14 d。莪术油、紫杉醇的剂量来自于文献[16-18],莪术醇、莪术酮的剂量来自于预实验-药物急性毒性实验。K组,不作任何处理;M组,注射生理盐水 $2\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;Z组,注射紫杉醇 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;Y组,注射莪术油 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;C组,注射莪术醇 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;T组,注射莪术酮 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

**2.5 取材与指标检测** 末次给药24 h后,造模组裸鼠做肿瘤切除手术,将肉眼可见的肿瘤组织全部切除,尽可能地去除多余杂质组织,清洗称质量后,部分于4%多聚甲醛固定保存,另一部分于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。对各组肿瘤组织进行苏木素-伊红(HE)染色,观察各肿瘤组织形态结构的变化情况;运用Real-time PCR技术检测各组瘤体组织中VEGFA, STAT3, mTOR mRNA的表达;运用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测各组瘤体组织中VEGFA, STAT3, mTOR蛋白表达量;运用免疫组化法检测各组瘤体组织VEGFA, STAT3, mTOR蛋白表达分布。

**2.5.1 HE染色观察各肿瘤组织形态结构的变化**  
将各组卵巢癌瘤体组织用4%多聚甲醛固定保存24 h后,送往广西南宁睿谷生物有限公司做肿瘤组织HE病理染色。

**2.5.2 Western blot检测 VEGFA, STAT3, mTOR 蛋白表达** 将裸鼠瘤体组织的组织裂解,用BCA蛋白质试剂盒测量蛋白质浓度。并对蛋白质进行电泳,并通过10%与5%的SDS-PAGE分离,后转膜至PVDF膜上。将膜与稀释的一抗在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,一抗包括VEGFA(1:2 000), STAT3(1:1 500), mTOR(1:1万),和 $\beta$ -actin(1:5 000)。用TBST洗涤3次后,将膜与二抗(1:5 000)在室温下孵育2 h,再次用TBST洗涤3次,吸干多余水分。用ECL的A, B试剂等体积混匀配成显色液,将其均匀滴在膜上后快速将膜放入暗室中凝胶成像分析系统的显色板上,FluorChem E凝胶成像系统捕获图像,并使用Image J软件进行凝胶图像分析。

**2.5.3 Real-time PCR检测 VEGFA, STAT3, mTOR mRNA 的表达** 使用trizol法从瘤体组织中提取总RNA,后使用Infinite M200 pro多功能微孔板检测仪检测RNA浓度。然后使用#K1622试剂盒逆转录,根据试剂盒操作, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育5 min; $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养

$60\text{ min}$ ;  $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热5 min,完成逆转录后在罗氏LightCycler96 PCR仪器进行扩增靶基因的表达。反应以 $20\text{ }\mu\text{L}$ 体积进行,以 $\beta$ -actin作为内参进行标准化。每个样品进行3次重复分析以获得平均值。通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 测量mRNA的相对表达。PCR扩增条件为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性30 s,1个循环;第二步法, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性10 s, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火30 s,40个循环。PCR引物序列由生工生物(上海)工程股份有限公司合成,引物序列见表1。

表1 Real-time PCR引物序列

Table 1 Primer sequences for Real-time PCR

引物	序列(5'-3')	长度/bp
VEGFA	上游 GTAGTATAGTAGTAGTATA	19
	下游 GATACTACTAGTAGTATGT	19
STAT3	上游 AAGCAGTTTCTTCAGAGCAGGT	23
	下游 CTTCTCCGTCACCACGGC	19
mTOR	上游 CGCTGTCATCCCTTTATCG	19
	下游 ATGCTCAAACACCTCCACC	19
$\beta$ -actin	上游 GTACTAGTCGTAGCAGTAG	19
	下游 GCTAGTCAGTCAGCTAGCT	19

**2.6 统计学方法** 采用SPSS 25.0软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两样本均数间的比较采用 $t$ 检验;多个样本间的比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 莪术活性化合物及靶点** 通过检索,收集到莪术共含有81种化学成分,选择 $\text{OB}\geq 30\%$ , $\text{DL}\geq 0.13$ 做为莪术活性组分的筛选条件,共筛选出8种化合物。见表2。其中,莪术醇(curcumol)是莪术所有化合物中OB最高的成分,异莪术醇(isocurcumenol)排在第2位;而常春藤苷(hederagenin)是DL最高的化合物,高达0.75,其次是桂莪术内酯(gweicurculactone)和异莪术醇(isocurcumenol),这与其他网络药理学研究一致<sup>[19-23]</sup>。根据目前的药学研究发现,化合物wenjine和双去甲氧基姜黄素(bisdemethoxycurcumin)无活性靶点,故应该排除。剩下的6个活性化合物,共有33个蛋白靶点。将1味中药,6种化合物,33个靶点导入Cytoscape 3.7.1软件进行可视化网络图的构建。见图1。

**3.2 疾病靶点与药物-靶点基因-疾病可视化网络**  
GeneCards数据库和OMIM数据库查找与OC相关基因,排除相同项。共得到7 958个基因与OC相

表 2 OB≥30%, DL≥0.13 的莪术活性成分

Table 2 OB ≥ 30%, DL ≥ 0.13 active ingredients of Curcumae Rhizoma

MOL	化合物	OB/%	DL
MOL000296	hederagenin(常春藤苷)	36.91	0.75
MOL000889	isocurcumenol(异莪术醇)	97.67	0.13
MOL000901	BRN 3094585(莪术烯醇)	87.82	0.13
MOL000902	curcumol(莪术醇)	103.55	0.13
MOL000903	gweicurculactone(桂莪术内酯)	42.92	0.14
MOL000906	wenjine	47.93	0.27
MOL000915	(1S,10S),(4S,5S)-germacrone-1(10),4-diepoide	30.48	0.18
MOL000940	bisdemethoxycurcumin(双去甲氧基姜黄素)	77.38	0.26

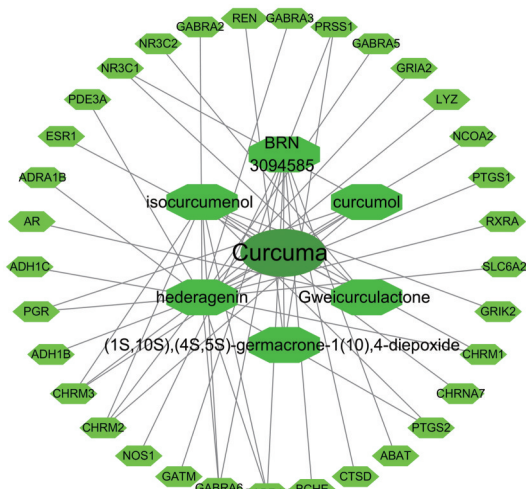


图 1 莪术-化合物-靶点可视化网络  
Fig. 1 Curcumae Rhizoma compound-target visualization network

关。与莪术油及其活性成分能作用的 33 个靶点进行比对,共得到 22 个相同靶点,见图 2(A)。导入 Cytoscape 3.7.1 软件构建药物-靶点基因-疾病可视化图像分析,见图 2(B)。

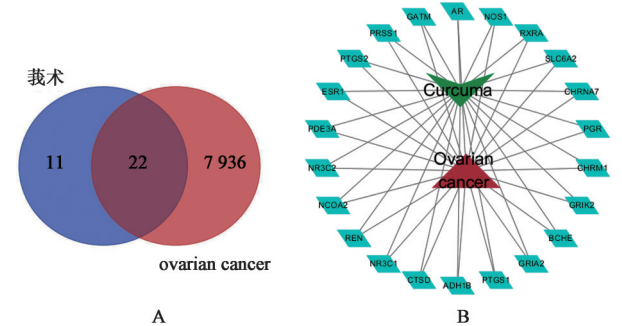


图 2 莪术-OC 共同靶点可视化  
Fig. 2 Visualization of common target of Curcumae Rhizoma and ovarian cancer

3.3 VEGFA, STAT3, mTOR 与 OC 的相关性 将 VEGFA, STAT3, mTOR 与 OC 疾病基因比对,确认

其都为 OC 疾病基因,见图 3(A)。PPI 网络图可见 3 个基因的联系颇为紧密,且互相关联,尤其是 mTOR-STAT3 和 STAT3-VEGFA 的相互联系。见图 3(B)。OC 线上极限乘法生存分析可见 3 个靶点都与 OC 的预后关系密切,都能影响 OC 患者的生存质量与生存时间。通过生物信息学分析,可以发现 VEGFA, STAT3, mTOR 在 OC 中发挥了重要作用。大量的文献及实验也证实了 VEGFA, STAT3, mTOR 在 OC 中的高表达情况<sup>[24-25]</sup>。

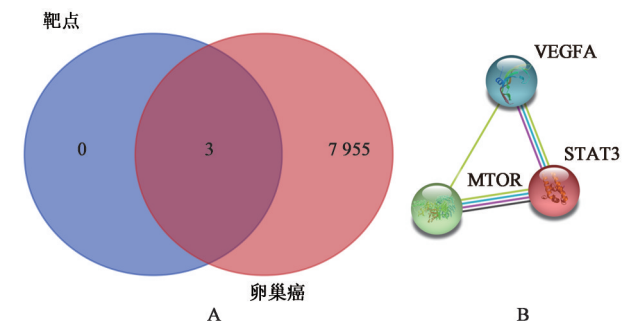


图 3 VEGFA, STAT3, mTOR 与 OC 的相关性  
mTOR 在 Kaplan Meier-Plotter 数据库的分子 ID 为 202288\_at,因多个命名,故显示为 FRAP

图 3 VEGFA, STAT3, mTOR 与 OC 的相关性  
Fig. 3 Correlation between VEGFA, STAT3, mTOR and ovarian cancer

3.4 VEGFA, STAT3, MTOR 与莪术-OC 共同靶点的相关性 22 个靶点中有 4 个靶点 SLC6A2, PRSS1, PDE3A, ADH1B 无相互作用,可能是通过和其他的蛋白靶点结合才能发挥作用;而 NR3C1, PGR, PTGS2, NCOA3, ESR1(度值≥6)相互作用力强,可能是莪术油及其活性成分作用与 OC 的关键靶点,见图 4(A)。25 个靶点中 SLC6A2, PRSS1, PDE3A, ADH1B 没有相互作用,而 VEGFA, NR3C1, PGR, PTGS2, ESR1, AR, MTOR, STAT3(度值≥7)之间的相互作用强。其中,靶点 NR3C1,

PGR, PTGS2, ESR1, AR, PTGS1, REN, NOS1 可以作用于 VEGFA; 靶点 PTGS2, ESR1, AR, PGR, NR3C1 可以作用于 STAT3; 靶点 CTSD, ESR1, AR, PGR 可以作用于 mTOR; 靶点 ESR1, AR, PGR 可以同时作用于 VEGFA, STAT3 和 mTOR, 由此可见 VEGFA, STAT3, mTOR 在 OC 中具有很强影响力的同时, 也能够同时被多个莪术油活性成分的靶点所调控, 莪术油及其活性成分可能是通过调控自身靶点以对 VEGFA, STAT3, Mtor 产生调控作用。具体关系见图4(B)。

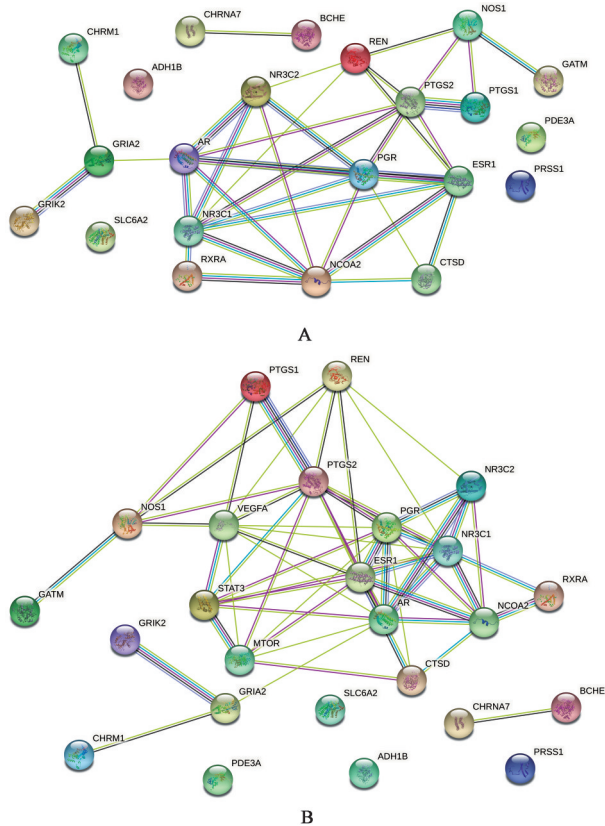


图4 莪术治疗OC的PPI网络

Fig. 4 PPI network of Curcuma Rhizoma for OC

**3.5 VEGFA, STAT3, mTOR 和共同靶点的基因功能分析** 研究结果发现25个靶点与27个生物学进程(BP)相关, 其中与信号转导, RNA聚合酶II启动子转录的正调控, DNA转录模板, RNA聚合酶II转录启动子, DNA转录调控, 药物反应, 类固醇激素介导的信号通路, 细胞增殖负调节, 细胞增殖正调控等相关密切; 与9个细胞组分(CC)相关, 其中与核染色质、突触后膜、蛋白质复合物等联系密切; 与21个分子功能(MF)相关, 其中与序列特异性DNA结合转录因子活性、锌离子结合、类固醇激素受体活性、酶结合、聚合酶II核心启动子近端区序列特

异性DNA结合、序列特异性DNA结合、类固醇结合等相关密切。KEGG信号通路分析显示, 25个靶点与5条信号通路相关, 神经活性配体受体相互作用、甲状腺激素信号通路、脂肪细胞因子信号通路、化学致癌作用和癌症信号通路; 其中又以癌症信号通路最为相关。见图5。结果表明, 探讨莪术油及其活性成分通过VEGFA, STAT3, mTOR通路对OC作用的机制研究具有较强的理论和实验研究基础。具有很强的可行性。

**3.6 对OC瘤体组织质量的影响** 研究结果限制与模型组比较, 其他给药组体重均明显降低( $P < 0.05$ )。见表3。

**3.7 对OC瘤体组织病理学的影响** 结果显示, 模型组可见瘤体组织肿瘤细胞分布致密, 内部无囊泡; 紫杉醇组与模型组比较, 细胞密度缩小, 瘤体组织内部也出现了一些较小的空囊泡, 数量较多; 莪术油组与模型组比较, 细胞密度缩小, 瘤体组织内部也出现了一些大小不一的空囊泡; 莪术醇组与模型组比较, 细胞密度缩小, 瘤体组织内部也出现了一些较小的空囊泡。数量较多; 莪术酮组与模型组比较, 瘤体组织内部也出现了一些较小的空囊泡。见图6。

**3.8 对OC瘤体组织 VEGFA, STAT3, mTOR mRNA 表达的影响** 与模型组比较, 紫杉醇组、莪术油组、莪术醇组、莪术酮组的OC瘤体组织中 VEGFA, STAT3, mTOR mRNA 表达明显降低( $P < 0.05$ )。与紫杉醇组比较, 莪术油组中 VEGFA, mTOR mRNA 表达量明显降低, STAT3 mRNA 表达量明显升高( $P < 0.05$ ); 莪术醇组中 VEGFA, mTOR mRNA 表达量明显升高, STAT3 mRNA 表达量明显降低( $P < 0.05$ ); 莪术酮组中 VEGFA, STAT3, mTOR mRNA 表达量高( $P < 0.05$ )。与莪术油组比较, 莪术醇组中 VEGFA, mTOR mRNA 表达量明显升高, STAT3 mRNA 表达量明显降低( $P < 0.05$ ); 莪术酮组中 VEGFA, mTOR mRNA 表达量明显升高( $P < 0.05$ )。见表4。

**3.9 对OC瘤体组织 VEGFA, STAT3, mTOR 蛋白表达的影响**

**3.9.1 免疫组化结果** 研究结果显示, 与模型组比较, 紫杉醇组、莪术油组、莪术醇组、莪术酮组的OC瘤体组织中 VEGFA, STAT3, mTOR mRNA 表达明显降低( $P < 0.05$ )。与紫杉醇组比较, 莪术油组中 VEGFA, mTOR 的蛋白表达量明显降低, STAT3 的蛋白表达明显升高( $P < 0.05$ ); 莪术醇组中 VEGFA,

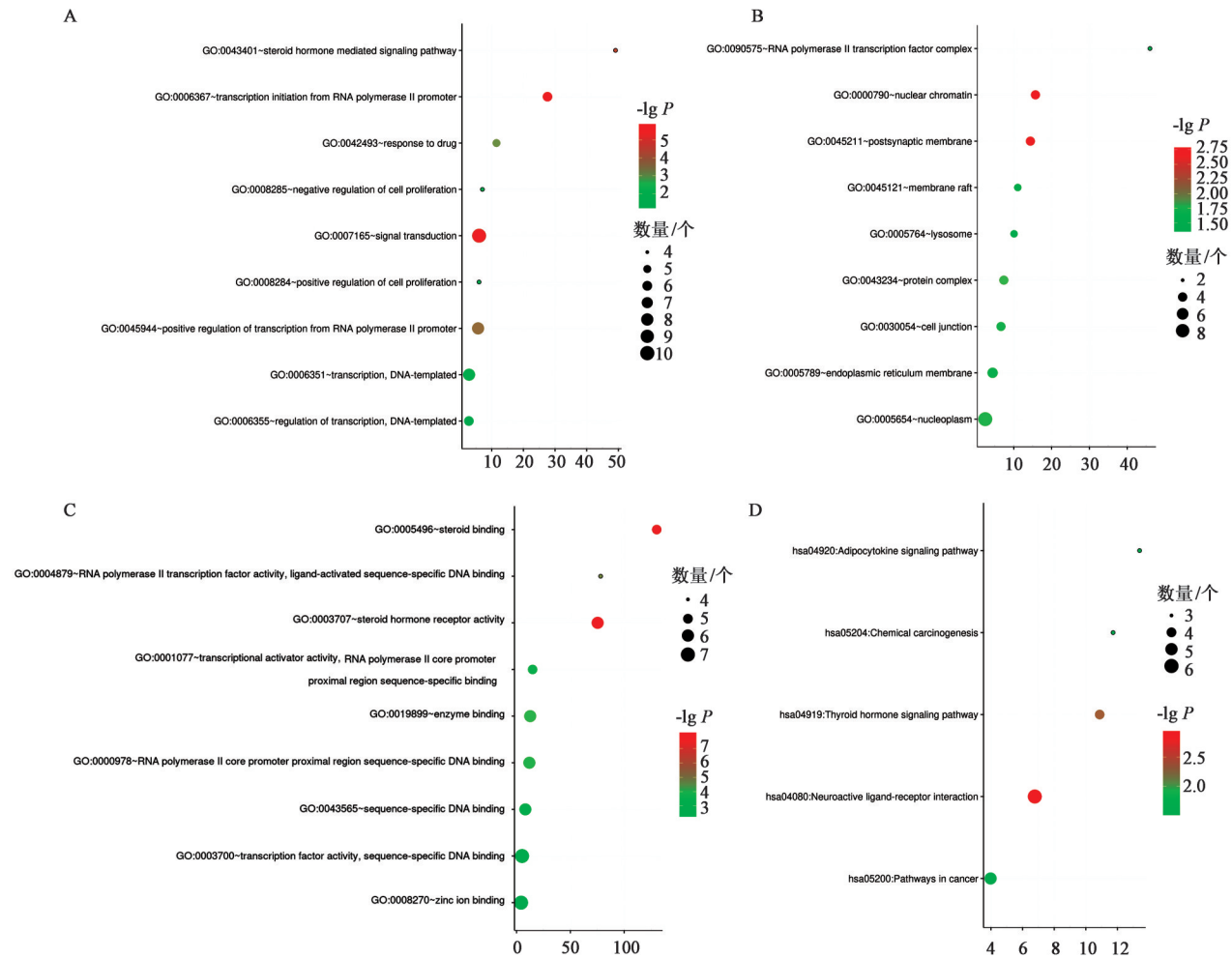


图 5 靶点富集分析

Fig. 5 Target enrichment analysis

表 3 莪术油及其活性成分对各组裸鼠瘤体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )  
Table 3 Effect of Zedoary Turmeric oil and its active components on Tumor weight of nude mice in each group ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	瘤体质量/g
模型		0.54±0.21
紫杉醇	10	0.31±0.11 <sup>1)</sup>
莪术油	200	0.23±0.11 <sup>1)</sup>
莪术醇	10	0.38±0.09 <sup>1)</sup>
莪术酮	10	0.40±0.15 <sup>1)</sup>

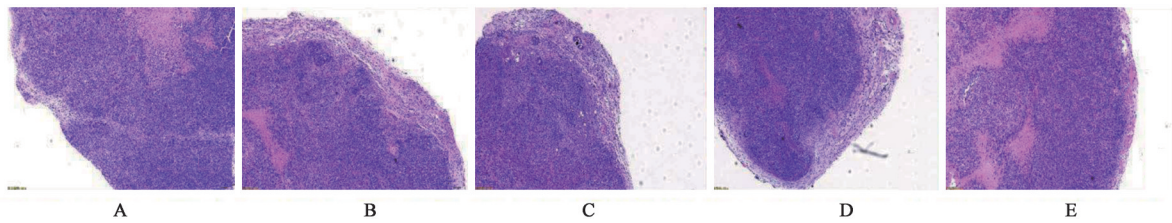
注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ 。

mTOR 的蛋白表达量明显升高, STAT3 的蛋白表达量明显降低 ( $P<0.05$ ); 莪术酮组中 VEGFA, STAT3, mTOR 的蛋白表达明显升高 ( $P<0.05$ )。与莪术油组比较, 莪术醇组中 VEGFA, mTOR 的蛋白表达量高, STAT3 的蛋白表达量低 ( $P<0.05$ ); 莪术酮组中 VEGFA, mTOR 的蛋白表达量高 ( $P<0.05$ )。见图 7, 表 5。

3.9.2 Western blot 分析 与模型组比较, 紫杉醇组、莪术油组、莪术醇组、莪术酮组的 OC 瘤体组织中 VEGFA, STAT3, mTOR mRNA 表达明显降低 ( $P<0.05$ )。与紫杉醇组比较, 莪术油中 VEGFA, mTOR 的蛋白表达明显升高, STAT3 的蛋白表达明显升高 ( $P<0.05$ ); 莪术醇组中 VEGFA, mTOR 的蛋白表达明显升高, STAT3 的蛋白表达明显降低 ( $P<0.05$ ); 莪术酮组中 VEGFA, STAT3, mTOR 的蛋白表达明显 ( $P<0.05$ )。与莪术油组比较, 莪术醇组中 VEGFA, mTOR 的蛋白表达明显升高, STAT3 的蛋白表达明显降低 ( $P<0.05$ ); 莪术酮组中 VEGFA, mTOR 的蛋白表达明显升高 ( $P<0.05$ )。见表 6, 图 8。

#### 4 讨论

目前, OC 由于缺乏有效的筛查手段和其特异性的临床表征, 患者往往到了晚期阶段才能得以诊断, 加上患者对化疗药物的高耐药性, 导致其病死



A. 模型组; B. 紫杉醇组; C. 莪术油组; D. 莪术醇组; E. 莪术酮组(图7,8同)

图6 莪术油及其活性成分对OC瘤体组织病理学的影响(HE, ×40)

Fig. 6 Effect of Zedoary Turmeric oil and its active components on histopathology in periovarian cancer tissues (HE, ×40)

表4 莪术油及其活性成分对各组裸鼠OC瘤体组织VEGFA, STAT3, mTOR mRNA表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 4 Effect of Zedoary Turmeric oil and its active components on VEGFA, STAT3, mTOR mRNA expression in different groups of ovarian cancer ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	VEGFA	STAT3	mTOR
模型		1.01±0.08	1.11±0.09	1.09±0.11
紫杉醇	10	0.48±0.12 <sup>1)</sup>	0.51±0.07 <sup>1)</sup>	0.58±0.05 <sup>1)</sup>
莪术油	200	0.32±0.08 <sup>1,2)</sup>	0.78±0.14 <sup>1,2)</sup>	0.36±0.09 <sup>1,2)</sup>
莪术醇	10	0.82±0.11 <sup>1,2,3)</sup>	0.34±0.12 <sup>1,2,3)</sup>	0.81±0.12 <sup>1,2,3)</sup>
莪术酮	10	0.71±0.09 <sup>1,2,3)</sup>	0.75±0.16 <sup>1,2)</sup>	0.77±0.06 <sup>1,2,3)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup>P<0.05;与紫杉醇组比较<sup>2)</sup>P<0.05;与莪术油组比较<sup>3)</sup>P<0.05(表5,6同)。

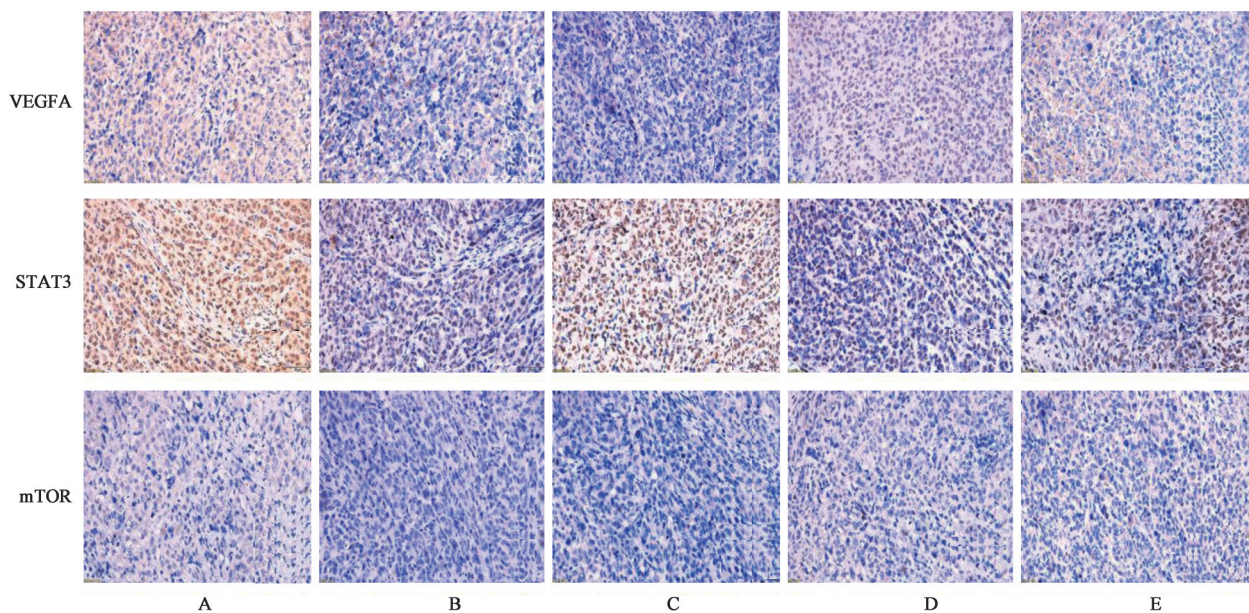


图7 莪术油及其活性成分对各组裸鼠OC瘤体组织VEGFA, STAT3, mTOR蛋白表达分布的影响(免疫组化, ×100)

Fig. 7 Effect of Zedoary Turmeric oil and its active components on expression and distribution of VEGFA, STAT3, mTOR protein in ovarian cancer tissues of nude mice (IHC, ×100)

表5 莪术油及其活性成分对各组裸鼠OC瘤体组织中VEGFA, STAT3, mTOR蛋白表达分布的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 5 Effect of Zedoary Turmeric oil and its active components on expression and distribution of VEGFA, STAT3, mTOR protein in ovarian cancer tissues of each group ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	VEGFA	STAT3	mTOR
模型		4.11±0.74	4.58±0.3	4.15±0.38
紫杉醇	10	1.78±0.20 <sup>1)</sup>	2.51±0.21 <sup>1)</sup>	1.88±0.39 <sup>1)</sup>
莪术油	200	1.51±0.29 <sup>1,2)</sup>	3.11±0.16 <sup>1,2)</sup>	1.42±0.37 <sup>1,2)</sup>
莪术醇	10	2.81±0.48 <sup>1,2,3)</sup>	2.01±0.44 <sup>1,2,3)</sup>	2.83±0.19 <sup>1,2,3)</sup>
莪术酮	10	2.99±0.52 <sup>1,2,3)</sup>	3.07±0.23 <sup>1,2)</sup>	2.63±0.28 <sup>1,2,3)</sup>

表 6 莪术油及其活性成分对各组裸鼠 OC 瘤体组织中 VEGFA, STAT3, mTOR 蛋白表达含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 6 Effect of Zedoary Turmeric oil and its active components on expression of VEGFA, STAT3, mTOR protein in ovarian cancer tissues of each group ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	VEGFA/ $\beta$ -actin	STAT3/ $\beta$ -actin	mTOR/ $\beta$ -actin
模型		1.58±0.22	1.37±0.16	1.61±0.13
紫杉醇	10	0.56±0.13 <sup>1)</sup>	0.53±0.16 <sup>1)</sup>	0.55±0.01 <sup>1)</sup>
莪术油	200	0.35±0.15 <sup>1)2)</sup>	0.89±0.15 <sup>1,2)</sup>	0.37±0.13 <sup>1,2)</sup>
莪术醇	10	0.79±0.12 <sup>1,2,3)</sup>	0.32±0.13 <sup>1,2,3)</sup>	0.87±0.19 <sup>1,2,3)</sup>
莪术酮	10	0.77±0.21 <sup>1,2,3)</sup>	0.85±0.17 <sup>1,2)</sup>	0.84±0.1 <sup>1,2,3)</sup>

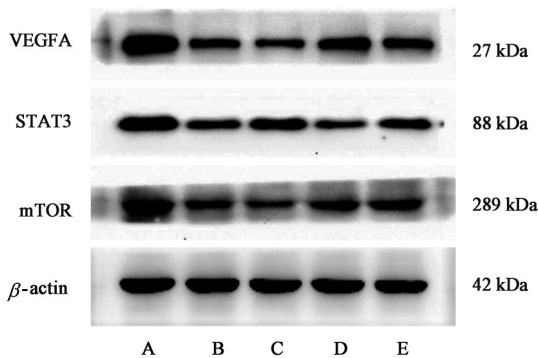


图 8 各组裸鼠 OC 瘤体组织中 VEGFA, STAT3, mTOR 蛋白电泳  
Fig. 8 Electrophoresis of VEGFA, STAT3, mTOR protein expression in ovarian cancer tissues of each group

率居高不下。而卵巢肿瘤的发生发展与细胞内、细胞间的信号传递密切相关,信号传导通路失调引起肿瘤细胞异常快速的增殖、转移,诱发诸多并发症,如全身炎症性反应、骨骼肌萎缩和脂肪分解等<sup>[26]</sup>。VEGFA 是 VEGF 家族中最常见的类型,有能够刺激内皮细胞增殖的细胞因子,具有很强的血管渗透性,可以通过增加小静脉血管的渗透性,促使血管壁出现渗漏<sup>[27]</sup>。VEGFA 的表达失衡,对肿瘤细胞的增殖具有重要作用。STAT3 是 STAT 蛋白家族中的一员,除了调节肿瘤细胞的信号转导及基因转录外,STAT3 激活还能通过调节肿瘤微环境以及机体的免疫反应等促进多种肿瘤的形成和进展,如在 OC,胃癌,头颈部鳞状细胞癌等恶性肿瘤中普遍上调<sup>[28]</sup>。mTOR 是一种非典型的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,研究发现,抑制 mTOR 信号通路可通过逆转上皮-间质转化和减少癌症干细胞标志物的表达来减轻 OC 的化学耐药性<sup>[29]</sup>。更重要的是, mTOR 信号通路的抑制可使耐化疗 OC 细胞对化疗药物重新敏化<sup>[30]</sup>。由此可见,由肿瘤巨噬细胞分泌的胞外因子 VEGFA 的激活结合其配体 VEGFR2,使肿瘤血管不断增生,以此由细胞内 STAT3 传导至 mTOR,促使细胞增殖,同时,肿瘤血管的形成又为肿瘤细胞增殖提供能量和营养支持;而细胞增殖的加快,又可

以通过 STAT3 传导给 VEGFA,促使肿瘤血管的再生长,形成一个肿瘤快速生长的闭环。探讨一个能够直接作用于 3 者的“靶向药物”,可能是抑制 OC 生长的可行之路。

近年来,中医药在治疗 OC 方面取得了长足的发展,尤其是中药、民族药注射液的应用,有较好的临床疗效。莪术油是大品种、经典的中药民族药注射液,很早便应用于 OC 的临床治疗,且效果极佳<sup>[9-10,31]</sup>。目前研究发现,莪术醇、莪术酮、异莪术醇和榄香烯等是莪术油的主要抗肿瘤活性成分<sup>[32-34]</sup>。梁丹等<sup>[9]</sup>,曾建红等<sup>[10]</sup>和阮琼芳等<sup>[31]</sup>研究者在临床使用莪术油治疗或者辅助治疗 OC,疗效已经得到证实,效果显著,并能降低 OC 患者化疗引起的不良反应,如头晕、耳鸣和白细胞减少等,提高患者生存、生活质量。另有大量的细胞实验证明,莪术油能有效抑制人 OC 细胞的增殖。研究发现莪术油不仅能够对人 OC 细胞 SKOV3 产生抑制甚至凋亡癌细胞的作用,还能增加人 OC SKOV3 细胞对顺铂的敏感性,并认为其机制可能与 STAT3 的表达有关<sup>[35-37]</sup>。隆康健等<sup>[38]</sup>发现莪术油、莪术醇能很好的抑制 OC SKOV3 细胞的增殖,其机制可能和磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)通路有关。戴凌虹等<sup>[39]</sup>和汤欣等<sup>[40]</sup>研究者研究发现莪术醇能抑制 OC SKOV3 细胞增殖、迁移及侵袭,并诱导其凋亡。而 mTOR 作为 PI3K/Akt 通路的下游因子,调控着细胞的增殖,研究显示,莪术油活性成分莪术酮能有效抑制人 OC 细胞 SKOV3 中 mTOR 的表达,从而抑制 OC SKOV3 细胞的增殖<sup>[41]</sup>。

生物信息学研究发现,莪术油干预 OC 的靶点众多,经过的通路不一,调控机制也不同,后期可能需要不断地实验去验证,才能明确莪术油治疗 OC 的作用机制。同时,莪术油是否通过靶点 ESR1, AR, PGR 作用于 VEGFA, STAT3, mTOR,也需要实验验证。

本实验动物研究采用紫杉醇作为阳性对照,采

用莜术醇、莜术酮作为莜术油活性成分的代表。紫杉醇是目前OC治疗中最常用的化疗药物,临床疗效显著。莜术醇、莜术酮作为莜术油中的主要活性成分,生物活性较高,且前期实验研究发现对人OC SKOV3细胞有较强的抑制作用。设置紫杉醇阳性药对照组、莜术醇和莜术酮组能更好的揭示莜术油抗OC的作用机制。结果显示莜术油及其活性成分能降低OC模型裸鼠瘤体组织中VEGFA, STAT3, mTOR蛋白和mRNA的表达,可能是通过VEGFA, STAT3, mTOR来达到抑制卵巢癌增殖的。

[利益冲突] 本文无任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] 李淑青,陈亚萍. 卵巢癌对顺铂和紫杉醇耐药的分子机制[J]. 国际妇产科学杂志, 2016, 43(2): 145-150.
- [2] 韦露薇,李力. 上皮性卵巢癌多药耐药相关信号传导通路及其靶向药物研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2016, 43(9): 396-399.
- [3] SEEBACHER V, REINTHALLER A, KOELBL H, et al. The impact of the duration of adjuvant chemotherapy on survival in patients with epithelial ovarian cancer—a retrospective study [J]. PLoS One, 2017, 12: e0169272.
- [4] 曹芹雪. 艾迪注射液联合化疗治疗晚期卵巢癌的临床研究[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(1): 184-186.
- [5] 张浩,马舜,程杨. 雷公藤内酯醇对荷卵巢癌大鼠的抑瘤效应及其对免疫系统的影响[J]. 世界中医药, 2020, 15(15): 2255-2258.
- [6] 何文静,伏晓月,谢兰. 胎盘多肽注射液联合化疗治疗晚期卵巢癌的临床研究[J]. 重庆医学, 2017, 46(7): 931-933.
- [7] 万永红. 复方苦参注射液预防卵巢癌患者化疗所致骨髓抑制的疗效观察[J]. 中国药物与临床, 2016, 16(5): 710-711.
- [8] 肖红妮,刘志杰. “三棱-莜术”组分配伍介导PI3K-AKT通路治疗大鼠子宫肌瘤的研究[J]. 世界中医药, 2019, 14(6): 2267-2271.
- [9] 梁丹,杨美春,方刚,等. 莜术油注射液配合常规化疗干预卵巢癌的疗效观察[J]. 中医临床研究, 2014, 6(4): 7-8.
- [10] 曾建红,莫炫永,戴平,等. 广西莜术挥发油抗肿瘤作用的谱效关系研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 91-94.
- [11] 黎桂玉,林基勇,段雪琳,等. 莜术油注射液静脉注射安全性的Meta分析[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(1): 133-141.
- [12] 方刚,肖夏清,韩丽娟,等. 莜术油抗肿瘤的临床应用及实验研究进展[J]. 广西中医学院学报, 2009, 12(1): 61~63.
- [13] LI Z H, ZUO Y, HOU L, et al. Oldhamianoside inhibits the growth of ovarian cancer both *in vitro* and *in vivo* via adjusting inflammation and angiogenesis signals[J]. OncoTargets Ther, 2018, 11: 6031-6037.
- [14] YANG L H, LIN S C, XU L Y, et al. Novel activators and small-molecule inhibitors of STAT3 in cancer[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2019, 49: 10-22.
- [15] YANG N, QU Y J, CHENG Y, et al. Endoplasmic reticulum stress regulates proliferation, migration and invasion of human ovarian cancer SKOV3 cells through PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. Cancer Biomark, 2017, 19(3): 263-269.
- [16] 王洪倩. 莜术油下调OPN基因表达抑制结肠癌细胞增殖及肝转移分子机制的研究[D]. 杭州:浙江中医药大学, 2019.
- [17] 杨姣,陈君君,张湘奇,等. 消癌平注射液联合紫杉醇对人卵巢癌SK-OV-3细胞增殖及裸鼠异位移植瘤生长的作用[J]. 药学实践杂志, 2017, 35(6): 516-519, 529.
- [18] 于丹,付明磊,王娟,等. EGCG对卵巢癌移植瘤生长及对VEGF和PCNA的影响[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(1): 114-118.
- [19] 郑洋,王佳慧,梁天坚,等. 基于网络药理学分析莜术的作用机制[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(2): 15-18.
- [20] 黄志琼,刘丽,杨洁,等. 基于网络药理学莜术抗阴道炎的机制研究[J]. 数理医药学杂志, 2019, 32(9): 1265-1268.
- [21] 严谨,王芙蓉,贺丰杰,等. 基于网络药理学的祛膜止崩乳膏中“三棱-莜术”药对作用机制分析[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(2): 489-491.
- [22] WANG Q, YUAN L L, ZHANG Y L, et al. Research on network pharmacology of Acori Tatarinowii Rhizoma combined with Curcumae Radix in treating epilepsy[J]. Chin J Chin Mater Med, 2019, 44(13): 2701-2708.
- [23] 赖艳妮,严一文,徐培平. 基于系统药理学探索莜术有效成分的药理作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 177-182.
- [24] LI X, HU Z H, SHI H R, et al. Inhibition of VEGFA increases the sensitivity of ovarian cancer cells to chemotherapy by suppressing VEGFA-mediated autophagy [J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 8161-8171.
- [25] LIU L D, ZHANG Z W, ZHANG G X, et al. Down-regulation of PADI2 prevents proliferation and

- epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer through inhibiting JAK2/STAT3 pathway *in vitro* and *in vivo*, alone or in combination with Olaparib [J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1):357-357.
- [26] 梁伟晨,刘健,马玲. 信号传导通路在卵巢癌耐药形成中的作用[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(8):2043-2047.
- [27] KAJAL K, PANDA A K, BHAT J, et al. Andrographolide binds to ATP-binding pocket of VEGFR2 to impede VEGFA-mediated tumor-angiogenesis [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):4073.
- [28] DORAYAPPAN K D P, WANNER R, WALLBILICH J J, et al. Hypoxia-induced exosomes contribute to a more aggressive and chemoresistant ovarian cancer phenotype: a novel mechanism linking STAT3/Rab proteins [J]. *Oncogene*, 2018, 37(28):3806-3821.
- [29] 马艳英,袁博,赵文伯,等. 奥拉帕尼对卵巢癌 SKOV3 细胞 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的影响 [J]. *中国药理学杂志*, 2019, 54(1):36-41.
- [30] 吴佩阳. 卵巢上皮性癌多药耐药相关信号通路及靶向药物治疗的研究进展 [J]. *现代妇产科进展*, 2019, 28(7):551-555.
- [31] 阮琼芳,钟桂英. 莪术油和常规化疗联合治疗卵巢癌的效果分析 [J]. *医学理论与实践*, 2018, 31(4):554-555.
- [32] 尹定聪,杨华升. 莪术油抗肿瘤作用的研究进展 [J]. *中医药导报*, 2018, 24(3):62-63, 69.
- [33] 秦铁城,文海斌,陈珮,等. 莪术醇抗肿瘤研究进展 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2013, 22(18):2043-2045.
- [34] 黄岚珍,王娟,卢菲婷,等. 莪术醇抑制人肝癌细胞 HepG2 增殖的机制 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(11):1812-1815.
- [35] 李艳芳,李敏,刘首娟,等. 莪术油对人卵巢癌 SKOV3 细胞的影响及铂类耐药逆转作用 [J]. *中成药*, 2013, 35(8):1604-1608.
- [36] 陈仲波,邢洁,朱笏青,等. 莪术油对卵巢癌裸鼠移植瘤的抑制作用及其联合顺铂的协同作用研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(12):1462-1467.
- [37] 李荣霞,刘首娟,孔德胜,等. 莪术油诱导卵巢癌顺铂耐药细胞凋亡及对 STAT 信号传导通路的影响 [J]. *中成药*, 2013, 35(12):2570-2576.
- [38] 隆康健,韩凤娟,吴效科,等. 莪术油注射液对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖及形态学变化的影响 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2011, 6(8):660-662.
- [39] 戴凌虹,孙云,陈祥艳. 莪术醇对人卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响 [J]. *温州医科大学学报*, 2019, 49(10):740-743.
- [40] 汤欣,韩凤娟,李威,等. 莪术醇对人卵巢癌 SKOV3 细胞株 JAK2/STAT3 信号通路影响的研究 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2013, 14(1):43-46.
- [41] ZHANG Z L, LI L Y, WANG J M, et al. A study of zederone for the inhibition on ovarian cancer cell proliferation through mTOR/p70s6K signalling pathway [J]. *J Buon*, 2020, 25(2):785-791.

[责任编辑 王鑫]