

基于系统药理学分析鱼腥草抗肿瘤作用机制

张玉如¹, 田旭萍¹, 赵泽州¹, 肖伟^{2*}, 王永华^{1*}

(1. 石河子大学, 新疆石河子 832000; 2. 江苏康缘药业有限公司, 江苏连云港 222000)

[摘要] 目的:采用系统药理学的方法探讨鱼腥草治疗肺癌的有效成分、作用靶点及作用机制,为其进一步开发和临床应用提供参考。方法:利用中药系统药理学数据库(TCMSP)筛选鱼腥草的化学成分;通过口服生物利用度(OB)、类药性(DL)两个药代动力学参数筛选活性化合物;接着进行靶点筛选并对靶点进行富集分析;最后,选取鱼腥草素钠(SH)进行分子层面抗肿瘤机制的验证,通过细胞增殖与毒性检测(CCK-8)实验评估SH对两种肺癌细胞系(A549, LLC)体外增殖的影响,并通过蛋白免疫印迹法(Western blot)验证SH对肿瘤相关蛋白的调节作用。结果:首先筛选得到7个活性化合物,通过预测得出活性化合物对应的352个相关靶点;接着,通过对靶点的富集分析发现鱼腥草对于癌症有潜在的治疗作用;最终CCK-8结果显示,SH对A549与LLC均有抑制作用,Western blot结果显示,G₁/S-特异性周期蛋白D₁、E₁(Cyclin D₁, Cyclin E₁)及细胞周期蛋白依赖性激酶2和激酶4(CDK2, CDK4)均有下调趋势,并且Janus激酶2(JAK2)和信号转导子与转录激活子3(STAT3)也变化明显。结论:该研究发现鱼腥草具有潜在的抗肿瘤作用,其可能通过JAK2/STAT3通路将肿瘤细胞遏制于细胞周期G₁期而发挥抗肿瘤作用。

[关键词] 鱼腥草; 肺癌; 系统药理学; 细胞周期

[中图分类号] R285;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)14-0165-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220819 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220512.1424.001.html>

[网络出版日期] 2022-05-13 11:42

Systems Pharmacology-based Analysis of Anti-tumor Mechanism of *Houttuynia cordata*

ZHANG Yuru¹, TIAN Xuping¹, ZHAO Zezhou¹, XIAO Wei^{2*}, WANG Yonghua^{1*}

(1. Shihezi University, Shihezi 832000, China;

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang 222000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effective components, targets, and mechanism of *Houttuynia cordata* against lung cancer by means of systems pharmacology and further to provide a reference for the further development and clinical application of this medicinal. **Method:** Chemical components of *H. cordata* were retrieved from Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and the active components were screened based on oral bioavailability (OB) and drug-likeness (DL). Then the potential targets were predicted, followed by enrichment analysis. Finally, sodium houttuynifonate (SH) was selected for verifying the anti-tumor mechanism. Cell counting kit-8 (CCK-8) assay was used to evaluate the effect of SH on the *in vitro* proliferation of two lung cancer cell lines: A549 and LLC, and the regulation of tumor-related proteins by SH was verified by Western blot. **Result:** A total of 7 active compounds and 352 targets of the active components were screened out. According to the enrichment analysis of targets, *H. cordata* had potential therapeutic effects on cancer. SH had inhibitory effect on both A549 and LLC. Western blot results

[收稿日期] 2022-02-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目(U1603285)

[第一作者] 张玉如,在读硕士,从事药理学研究,E-mail:641556987@qq.com

[通信作者] *王永华,博士,教授,博士生导师,从事中西医结合治疗肿瘤的基础研究,E-mail:dcpywh@163.com;

*肖伟,博士,教授,博士生导师,从事中药药理与临床研究,E-mail:xw_kanion@163.com

showed that G₁/S-specific Cyclin D₁, E₁ and cyclin-dependent kinase (CDK) 2, CDK4 all tended to be down-regulated, and Janus kinase 2 (JAK2)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) also changed significantly. **Conclusion:** *H. cordata* has the potential anti-tumor effects by arresting the tumor cells in the G₁ phase through the JAK2/STAT3 pathway.

[Keywords] *Houttuynia cordata*; lung cancer; systems pharmacology; cell cycle

肺癌是我国死亡率最高且最常见的癌症之一^[1],是一种由于支气管黏膜或腺体病变而导致的恶性肿瘤^[2],当前肺癌的治疗方法主要包括化学疗法、放射疗法、手术疗法以及生物疗法^[3]。但这些治疗手段易出现耐药性,且伴有严重的副作用和并发症。近年来,随着对中药复方及中药天然产物的深入研究,发现其在治疗癌症方面呈现疗效好、耐药性和不良反应低的优点,受到广泛关注。鱼腥草 *Houttuynia cordata* 是2020年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)收录的草药,其来源为三白草科植物蕺菜的干燥地上部分。鱼腥草具有治疗感染性疾病^[4],支气管炎^[5],尿路感染^[6]等多重功效;同时有学者发现鱼腥草对肺部疾病有良好的治疗效果^[4,7-9];另有研究显示鱼腥草提取物^[10]对结肠癌^[11]、白血病^[12]、肺癌^[13]、肝癌^[14]均有明显的抑制作用,但其具体的抗肿瘤作用机制尚不明确。

研究表明,Janus激酶2(JAK2)的表达增加会导致癌细胞的增殖与侵袭能力,表明JAK2与肿瘤的进展密切相关^[15]。信号转导子与转录激活子3(STAT3)是STAT家族中促进肿瘤生长与免疫抑制相关性最强的一个基因^[16-17],其在许多肿瘤中(实体瘤与血液癌)都异常激活^[17-18]。因此可以通过抑制JAK2与STAT3的表达从而抑制癌症的进展。而在细胞周期中G₁期是细胞分化的关键步骤,决定着细胞增殖、迁移和侵袭的进程^[19]。在此阶段特异性周期蛋白(Cyclin)D₁与CDK4/CDK6形成复合体、Cyclin E₁与蛋白依赖性激酶(CDK)2形成复合体,激活细胞分裂程序,促使细胞的继续分化^[20],而细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂(CKI)(P21、P27)^[21]则会阻滞细胞向下一阶段过渡,并且P21可以与Cyclin-CDK复合物结合进而抑制其活性。目前尚未有研究报道鱼腥草调节JAK2/STAT3以及对细胞周期的影响与肺癌之间的关系,本研究借助通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库对鱼腥草进行成分分析及靶点计算,通过富集分析发掘鱼腥草发挥抗肿瘤作用的生物学过程,并对鱼腥草的主要活性成分鱼腥草素钠(SH)进行研究,探讨其对JAK2/STAT3及细胞周期相关蛋白的影响,

从而发掘鱼腥草素的抗肿瘤作用机制。该研究通过系统药理学平台解析了鱼腥草潜在的抗肿瘤药理作用,解决了多成分、多靶点的中药复杂体系挖掘机制的难题,为临床前中草药提取物药理作用或先导化合物的确定提供了指导,同时也为临床上中药抗癌疗法及个性化用药提供了理论参考。

1 材料与方法

1.1 系统药理学

1.1.1 鱼腥草分子数据库的建立以及靶点的筛选 首先,利用TCMSP(<http://lsp.nwu.edu.cn/>)^[22]收集并构建鱼腥草分子集合。根据ADME(absorption, distribution, metabolism and excretion)系统筛选其候选成分,选择口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18的化合物作为候选活性化合物。其次,采用靶点预测工具:加权系综相似度模型^[23]和系统药物靶向工具来预测鱼腥草活性化合物的靶点用于后续机制分析。

1.1.2 化合物-靶点网络构建与靶点的富集分析

为了探究鱼腥草活性化合物与靶点间的相互作用,利用Cytoscape 3.7.1^[24]软件绘制了化合物-靶点网络图,接着将预测到的药物靶点蛋白映射到可视化和综合分析的数据库Metascape(<http://metascape.org>)^[25]进行富集分析,并利用生物数据可视化平台Hiplot(<https://hiplot.com.cn>)将基因集生物学过程(GOBP)与京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集的条目进行可视化。

1.2 体外抗肿瘤验证 为了进一步说明系统药理学预测的准确性,选取鱼腥草的主要活性成分-新鱼腥草素钠(SH)进行抗肿瘤机制研究。

1.2.1 细胞系及细胞培养 人非小细胞肺癌细胞系A549与小鼠肺癌细胞系LLC购买中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心;细胞在添加10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养基中进行培养;置于37℃,5%CO₂的加湿环境中培养。

1.2.2 药物、试剂与仪器 新鱼腥草素钠(上海源叶生物有限公司,批号CAS83766-73-8),配制12 mmol·L⁻¹母液用于后续实验。

DMEM培养基、FBS(Gibco公司,批号分别为

C11965500BT、10099141);细胞增殖与毒性检测(CCK-8)试剂盒(中国上海贝博公司,批号BB-4202-3000T);Qproteome™Q哺乳动物蛋白提取试剂盒(Qiagen公司,批号37901);BCA蛋白浓度测定试剂盒(江苏碧云天公司,批号P0010S);Immun-Star™ WesternC™化学发光试剂盒(美国Bio-Rad公司,批号1705060)。

JAK2、STAT3、磷酸化-信号转导子与转录激活子3(p-STAT3)、Cyclin E₁、Cyclin D₁、CDK4、CDK2、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1A(CDKN1A/P21)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、山羊抗兔辣根过氧化物酶(HRP)偶联二抗(美国Abcam公司,批号分别为ab108596、ab109085、ab76315、ab33911、ab134175、ab1108357、ab32147、ab109199、ab181602、ab6721)。

Flexstation 3型多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司),小型电泳设备、Trans-Blot SD型半干转印槽、GelDoc XR System型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司)。

1.2.3 细胞活力测定 将处于对数期生长的A549和LLC细胞以 1×10^4 个/mL的密度分别接种于96孔板中,培养24 h,接着用含药培养基培养24 h(药物浓度25、50、75、100、125、150、175、200、225、250 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$);弃去含药培养基,每孔加入含10% CCK-8的培养基,避光孵育3~4 h,测定 A_{450} ,计算SH的半数抑制浓度(IC_{50})进而确定给药浓度。细胞存活率计算公式:细胞活力 $= (A_{\text{给药组}} - A_{\text{溶剂组}}) / (A_{\text{空白组}} - A_{\text{溶剂组}}) \times 100\%$ 。

1.2.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)测定蛋白表达 细胞贴壁后,给药培养24 h(0、50、100、200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),使用蛋白提取试剂盒对细胞进行蛋白提取,并对提取蛋白进行定量分析,将定量后的蛋白与含5% β -巯基乙醇的上样缓冲液混合并变性,接着用10% SDS-PAGE对样品进行分离;并进行转膜;封闭并使用一抗JAK2(1:1 000)、STAT3(1:5 000)、P-STAT3(1:1万)、Cyclin E₁(1:1 000)、Cyclin D₁(1:2万)、CDK4(1:5 000)、CDK2(1:1 000)、P21(1:1 000)、GAPDH(1:1万)及二抗(1:1万)进行孵育,利用Image lab软件可视化标记。

1.3 统计分析 本文中的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据采用单因素方差分析的非配对 t 检验进行分析。采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 系统药理学

2.1.1 鱼腥草活性成分的筛选与网络构建 通过TCMSP数据库收集鱼腥草化合物49个,以此为基础建立鱼腥草的分子数据库。主要包括挥发油类、黄酮类、酯类、糖苷类、脂肪酸类和甾醇类化合物等。其中,挥发油类化合物含量最多,占30%,这也表明挥发油类物质是鱼腥草的主要成分。根据筛选标准,共筛选出7个符合标准化合物,接着进行靶点预测,得到7个化合物的352个靶点,为了使结果更加一目了然,通过化合物-靶点网络图来展示其相互关系。见增强出版附加材料。

鱼腥草素(MOL1)的靶点含有STAT3,其激活与癌症的发生、发展和转移等息息相关。有文献报道,鱼腥草素可以抑制STAT3/核转录因子- κB (NF- κB)信号通路改善炎症性肠病^[26]。临床数据证明部分癌症的发生、发展与炎症有一定的相关性,并且炎症又是肿瘤微环境的六大特征之一,所以具有抗炎活性的鱼腥草素有可能通过抑制STAT3改善肿瘤炎性微环境而发挥抗肿瘤效果。因此推测鱼腥草具有潜在的抗肿瘤作用,同时也证明了系统药理学药代动力学评价和靶点预测工具筛选潜在的抗肿瘤药物的可靠性。

2.1.2 靶点的富集分析 为了探究筛选所得到的352个靶点所参与的与肺癌相关的体内生物学过程及通路,对靶点进行富集分析,富集结果见增强出版附加材料。将癌细胞阻滞于周期内能够有效抑制肿瘤的生长与代谢过程,负向调节细胞周期生物过程和“细胞周期G₁/S期转化等条目被富集,表明鱼腥草可能会参与癌细胞周期相关生物学过程的调控而发挥抗肿瘤作用。

癌症相关通路位于KEGG富集首位,表明癌症相关通路与鱼腥草之间的相关性最高;所涉及的信号通路还包括非小细胞肺癌通路、细胞周期、JAK/STAT信号通路等。其中,癌症或者肺癌相关的数目较多,这也为鱼腥草潜在的抗癌作用提供了理论依据。另外,细胞周期相关的信号通路能抑制癌细胞分化与增殖,进而阻止肿瘤细胞的迁徙与转移;而JAK/STAT信号通路的异常激活则会导致癌症的形成^[27],综上所述,鱼腥草可能是通过调控上述信号通路发挥抗肿瘤作用。

2.2 实验验证

2.2.1 SH抑制肺癌细胞系的活力 细胞活力通常指基于细胞膜完整性的健康细胞数量。用不同浓

度的SH分别处理LLC与A549细胞24 h后,随着药物浓度的增加,细胞的活力逐渐下降,呈现浓度依赖效应。并且通过计算得出SH对A549和LLC的IC₅₀分别为133.4 μmol·L⁻¹和163.1 μmol·L⁻¹,与空白组比较,SH组细胞存活率显著下降(P<0.01)。见表1。

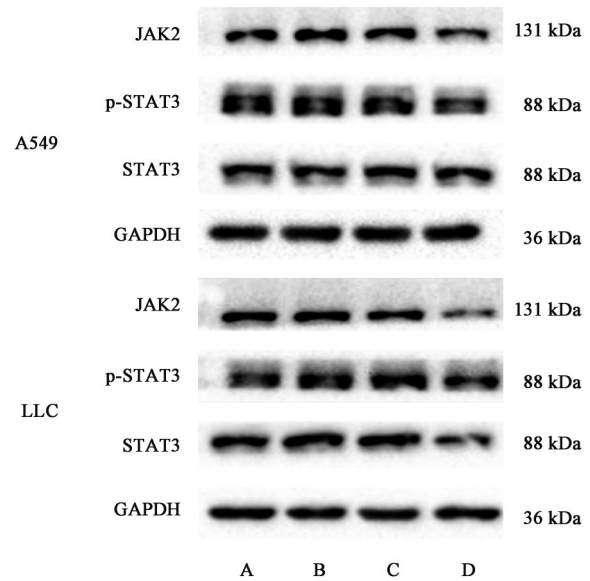
表1 SH对A549和LLC细胞增殖的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/μmol·L ⁻¹	A549细胞存活率	LLC细胞存活率
空白组		100.00±0.00	100.00±0.00
SH组	25	99.82±1.13	99.69±0.70
	50	92.71±0.97	95.58±0.70
	75	86.22±0.63 ¹⁾	93.30±1.26
	100	73.09±1.16 ¹⁾	75.93±1.40 ¹⁾
	125	45.02±0.72 ¹⁾	70.26±1.15 ¹⁾
	150	35.32±0.55 ¹⁾	62.73±0.78 ¹⁾
	175	32.50±0.57 ¹⁾	54.33±0.67 ¹⁾
	200	28.71±0.48 ¹⁾	34.49±0.57 ¹⁾
	225	22.30±1.08 ¹⁾	23.47±0.99 ¹⁾
250	17.95±0.83 ¹⁾	18.90±0.43 ¹⁾	

注:与空白组比较¹⁾P<0.01

2.2.2 SH调控JAK2/STAT3通路影响癌细胞增殖
之前的靶点预测结果显示,JAK2和STAT3为鱼腥草的靶点,因此,通过Western blot验证SH是否是通过调控JAK2/STAT3信号通路而发挥的抗肿瘤作用。结果显示,经过SH处理后,与空白组比较,A549细胞中JAK2与p-STAT3表达显著降低(P<0.01);LLC细胞中JAK2与STAT3也显著下调(P<0.01),见图1、表2、表3。由此推断SH能够通过调控JAK2/STAT3信号通路进而发挥抗肿瘤作用。

2.2.3 SH阻滞癌细胞G₁期的增殖 已有研究发现STAT3的激活能够调节Cyclin D₁等一系列因子^[28-29]的表达,2.2.2项结果证明SH可以下调胞内STAT3或p-STAT3,因此想探究在JAK2/STAT3信号通路抑制的肿瘤微环境里,下游的周期相关蛋白是否也产生了良性的变化。实验结果显示不论是A549或LLC,与空白组比较,SH处理后的细胞中P21显著上调(P<0.01),同时Cyclin D₁/CDK4及Cyclin E₁/CDK2轴上的蛋白表达呈显著的下调趋势(P<0.01),见图2、表4和表5。由于Cyclin D₁/CDK4及Cyclin E₁/CDK2复合物调控细胞周期从G₁期过渡到S期,说明SH药物处理后,胞内JAK2/STAT3信号通路的抑制可以将肿瘤细胞遏制于G₁期,阻断其



注:A. A549细胞;B. LLC细胞(图4同)

图1 肺癌细胞中JAK-STAT蛋白表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of JAK-STAT protein expression in lung cancer cells

表2 SH对A549细胞中JAK、STAT蛋白表达影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Effect of SH on JAK, STAT proteins expression in A549 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/μmol·L ⁻¹	JAK2 /GAPDH	STAT3 /GAPDH	p-STAT3 /GAPDH
空白组		0.878±0.022	0.958±0.017	0.885±0.017
SH组	50	0.906±0.007	0.937±0.007	0.867±0.012
	100	0.875±0.008	0.967±0.009	0.814±0.009
	200	0.677±0.008 ¹⁾	0.949±0.012	0.628±0.014 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾P<0.01(表3-表5同)

表3 SH对LLC细胞中JAK、STAT蛋白表达影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Effect of SH on JAK, STAT proteins expression in LLC ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	浓度/μmol·L ⁻¹	JAK2 /GAPDH	STAT3 /GAPDH	p-STAT3 /GAPDH
空白组		0.863±0.022	0.840±0.043	0.538±0.01
SH组	50	0.960±0.013	0.977±0.043	0.825±0.017
	100	0.818±0.009	1.004±0.016	0.887±0.009
	200	0.330±0.015 ¹⁾	0.462±0.013 ¹⁾	0.430±0.013

进一步进入S期增殖而达到抗肿瘤作用。

3 讨论

近年来,癌症的发病率在逐年升高,由于其复杂性以及难治性,使得癌症的死亡率也在逐年攀升。因肺癌具有高度异质性、高侵袭性、高转移性,且发病机制复杂,使得肺癌治疗变得相当棘手;中药抗肿瘤已成为目前癌症研究的热点。鱼腥草味

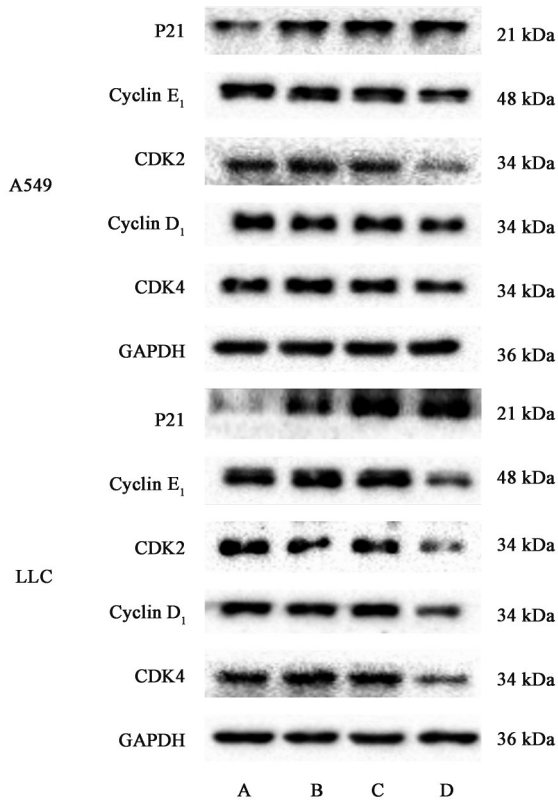


图2 肺癌细胞周期相关蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of cycle related proteins in lung cancer cells

辛,性寒凉,归肺经,具有清热解毒、消肿疗疮、利尿除湿、健胃消食等功效,用于治疗实热、热毒、湿邪、疾热为患的肺痈、疮疡肿毒、痔疮便血、脾胃积热等功效^[30]。除上述疗效外,也有研究发现鱼腥草的化学成分具有抗肿瘤作用,例如,鱼腥草总黄酮对宫颈癌具有抑制作用^[31],鱼腥草挥发油能抑制结肠癌的增殖^[32]。本研究结果显示,鱼腥草活性成分SH通过影响肿瘤细胞周期能够抑制肺癌细胞的增殖,

再次说明鱼腥草具有抗肿瘤作用。

系统药理学^[33]是一门借助于计算机技术阐述不同水平药物对机体功能影响的新兴学科^[34]。该方法已成功应用于中药对复杂疾病的机制研究,如鱼腥草抗呼吸道合胞病毒机制探讨^[35],金银花发挥抗抑郁机制研究^[36]等,在本研究中,首先利用TCMSP数据库和文献挖掘筛选出7个候选活性成分;得到352个候选靶点,并对靶点进行了GOBP与KEGG富集分析,发现一些靶点间具有密切联系且出现频率较高,包括JAK2, STAT3和Cyclin D₁等。为了探究鱼腥草的抗肿瘤作用机制,选取鱼腥草活性成分SH进行后续验证,CCK-8实验结果表明SH能抑制癌细胞的增殖;另有研究表明,JAK2/STAT3通路在细胞因子信号传递中发挥主导作用,其变化与多种癌症有相关性,包括炎症介导的癌症^[37],前列腺癌干细胞的增殖^[38]以及乳腺癌细胞的生长^[39],根据Western blot实验结果发现,SH可以抑制JAK2/STAT3通路中JAK2和STAT3蛋白的表达,表明SH是通过JAK2/STAT3通路发挥抗肿瘤作用;研究显示,STAT3是包括肺癌在内的多种恶性肿瘤发病机制中的一个核心调控者,并且SH能抑制STAT3表达从而增强非小细胞肺癌细胞的放疗敏感性^[40],与本文的研究结果类似,均表明SH可以作用于STAT3发挥抗肿瘤效果;细胞周期进展是由细胞周期蛋白、CDKs和CDK抑制剂(CDKI)共同调控的,P21是重要的CDKI,能够结合并抑制Cyclin/CDK复合物,从而抑制细胞增殖^[41],Western blot结果显示,SH能够上调P21的表达,并且下调Cyclin D₁/CDK4及Cyclin E₁/CDK2的表达,表明SH能够将癌

表4 SH对A549细胞中周期相关蛋白表达影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of SH on cycle related proteins expression in A549($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	P21/GAPDH	Cyclin D ₁ /GAPDH	CDK4/GAPDH	Cyclin E ₁ /GAPDH	CDK2/GAPDH
空白组		0.515±0.005	0.828±0.012	0.869±0.012	1.179±0.028	0.875±0.010
SH组	50	0.803±0.003	0.781±0.017	0.897±0.052	0.933±0.006	0.920±0.013
	100	0.927±0.016	0.827±0.015	0.873±0.014	0.954±0.011	0.820±0.016
	200	0.959±0.014 ¹⁾	0.634±0.017 ¹⁾	0.674±0.017 ¹⁾	0.715±0.007 ¹⁾	0.356±0.013 ¹⁾

表5 SH对LLC细胞中JAK/STAT蛋白表达影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Effect of SH on JAK/STAT proteins expression in LLC ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	P21/GAPDH	Cyclin D ₁ /GAPDH	CDK4/GAPDH	Cyclin E ₁ /GAPDH	CDK2/GAPDH
空白组		0.223±0.016	0.728±0.019	0.739±0.050	0.682±0.032	0.713±0.007
SH组	50	0.656±0.008	0.808±0.008	0.988±0.012	0.867±0.009	0.523±0.015
	100	0.936±0.026	0.887±0.006	0.898±0.013	0.872±0.024	0.668±0.012
	200	0.892±0.006 ¹⁾	0.411±0.007 ¹⁾	0.360±0.014 ¹⁾	0.351±0.016 ¹⁾	0.257±0.003 ¹⁾

细胞遏制于G₁期。周期相关蛋白位于STAT3下游,综合本研究结果发现,鱼腥草可能是通过抑制JAK2/STAT3通路信号进而阻滞癌细胞在G₁期而发挥抗肿瘤作用。见图3。

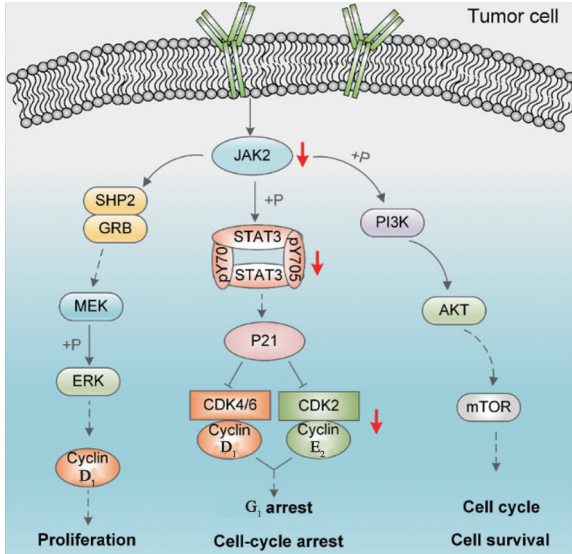


图3 SH发挥抗肿瘤作用的通路

Fig. 3 Pathway of SH on anti-tumor

综上所述,本研究提供了一种基于系统药理学从分子、网络、通路等层面的来分析鱼腥草治疗肺癌的新方法。不仅解析了中药方剂的多成分、多靶点协同治疗肺癌的机制,同时也证实了系统药理学分析结果的可靠性,为鱼腥草发挥抗肿瘤作用的研究提供了理论基础,也为临床前药物机制研究和临床抗癌疗法提供新的思路。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 赫捷,李霓,陈万青,等. 中国肺癌筛查与早诊早治指南(2021,北京)[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(3): 243-268.
[2] CHENG T Y, CRAMB S M, BAADE P D, et al. The international epidemiology of lung cancer: Latest trends, disparities, and tumor characteristics [J]. J Thorac Oncol, 2016, 11(10): 1653-1671.
[3] WRANGLE J, WANG W, KOCH A, et al. Epigenetic therapy and sensitization of lung cancer to immunotherapy[J]. Cancer Res, 2013, 73(8): 4619.
[4] ZHU H, LU X, LING L, et al. *Houttuynia cordata* polysaccharides ameliorate pneumonia severity and intestinal injury in mice with influenza virus infection [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 218: 90-99.
[5] LU H M, LIANG Y Z, YI L Z, et al. Anti-

inflammatory effect of *Houttuynia cordata* injection [J]. J Ethnopharmacol, 2006, 104(1/2): 245-249.

[6] 张健,张双禄,阳家才. 鱼腥草注射液尿道灌注治疗淋菌性尿道炎[J]. 中国中医急症, 2000, 9(1): 19.
[7] 贵丹. 富硒鱼腥草对放射性肺损伤防治的研究[D]. 恩施:湖北民族大学, 2020.
[8] 刘彦君. 鱼腥草来源的胞外囊泡对巨噬细胞线粒体代谢和炎症反应的调控作用[D]. 南京:南京中医药大学, 2020.
[9] YU F, YANG Y, WANG A, et al. Quantitative and highly selective sensing of sodium houttuynonate via long-aliphatic chains hydrophobic assembly and aggregation-induced emission[J]. New J Chem, 2015, 39(12): 9743-9751.
[10] YANG X Y, WANG G B, LE Y J, et al. Quantitative proteomics reveals the antitumor effects of sodium new houttuynonate on non-small cell lung cancer [J]. J Exploratory Res Pharmacol, 2021, 6(3): 87-95.
[11] TANG Y J, YANG J S, LIN C F, et al. *Houttuynia cordata* Thunb extract induces apoptosis through mitochondrial-dependent pathway in HT-29 human colon adenocarcinoma cells [J]. Oncol Rep, 2009, 22(5): 1051-1056.
[12] BANJERDPONGCHAI R, KONGTAWELERT P. Ethanol extract of fermented Thunb induces human leukemic HL-60 and Molt-4 cell apoptosis via oxidative stress and a mitochondrial pathway [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(11): 2871-2874.
[13] CHEN Y F, YANG J S, CHANG W S, et al. *Houttuynia cordata* Thunb extract modulates G₀/G₁ arrest and Fas/CD95-mediated death receptor apoptotic cell death in human lung cancer A549 cells [J]. J Biomed Sci, 2013, 20(1): 1-8.
[14] KIM J M, HWANG I H, JANG I S, et al. *Houttuynia cordata* Thunb promotes activation of HIF-1A-FOXO3 and MEF2A pathways to induce apoptosis in human HepG2 hepatocellular carcinoma cells [J]. Integr Cancer Ther, 2017, 16(3): 360-372.
[15] XU Y, JIN J, XU J, et al. JAK2 variations and functions in lung adenocarcinoma [J]. Tumour Biol, 2017, 39(6): 1010428317711140.
[16] BROMBERG J. Stat proteins and oncogenesis [J]. J Clin Invest, 2002, 109(9): 1139-1142.
[17] YU H, PARDOLL D, JOVE R. STATs in cancer inflammation and immunity: A leading role for STAT3 [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(11): 798-809.
[18] SONG J I, GRANDIS J R. STAT signaling in head and neck cancer [J]. Oncogene, 2000, 19(21): 2489-2495.

- [19] LI J, ZHOU Y, YAN Y, et al. Sulforaphane-cysteine downregulates CDK4/CDK6 and inhibits tubulin polymerization contributing to cell cycle arrest and apoptosis in human glioblastoma cells [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(17):16837-16851.
- [20] KRENTZ N, VAN HOOFF D, LI Z, et al. Phosphorylation of NEUROG3 links endocrine differentiation to the cell cycle in pancreatic progenitors [J]. Dev Cell, 2017, 41(2):129-142.
- [21] LEVKAU B, KOYAMA H, RAINES E W, et al. Cleavage of p21Cip1/Waf1 and p27Kip1 mediates apoptosis in endothelial cells through activation of Cdk2: Role of a caspase cascade [J]. Mol Cell, 1998, 1(4):553-563.
- [22] 黄超. 药物口服生物利用度预测及在中药归经研究上的应用[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2015.
- [23] 郑春丽. 基于靶点网络的中药复方协同整合作用机制研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2017.
- [24] LOPES C T, FRANZ M, KAZI F, et al. Cytoscape web: An interactive web-based network browser [J]. Bioinformatics, 2010, 26(18):2347-2348.
- [25] ZHOU Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. Nat Commun, 2019, 10(1):1523.
- [26] 邓学杰, 王振, 胡容, 等. 新鱼腥草素钠通过抑制 STAT3/NF- κ B 信号通路的激活改善小鼠炎症性肠病 [J]. 徐州医科大学学报, 2021, 41(8):570-574.
- [27] BOSE S, BANERJEE S, MONDAL A, et al. Targeting the JAK/STAT signaling pathway using phytochemicals for cancer prevention and therapy [J]. Cells, 2020, 9(6):1451.
- [28] BOURNAZOU E, BROMBERG J. Targeting the tumor microenvironment: JAK-STAT3 signaling [J]. JAK-STAT, 2013, 2(2):e23828.
- [29] YU H, KORTYLEWSKI M, PARDOLL D. Crosstalk between cancer and immune cells: Role of STAT3 in the tumour microenvironment [J]. Nat Rev Immunol, 2007, 7(1):41-51.
- [30] 赵强, 杨洁, 赵三虎, 等. 鱼腥草总黄酮提取及其药理作用研究进展 [J]. 分子植物育种, 2019, 17(23):7918-7923.
- [31] 薛兴阳, 付腾飞, 邵方元, 等. 鱼腥草总黄酮对人肿瘤细胞的抗肿瘤活性作用 [J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(23):2509-2511.
- [32] 赵晓丹. 鱼腥草挥发油抗结肠癌药效学及其肠用温度敏感型原位凝胶的制备研究[D]. 郑州:郑州大学, 2018.
- [33] ZHENG C, GUO Z, HUANG C, et al. Large-scale direct targeting for drug repositioning and discovery [J]. Sci Rep, 2015, 5:11970.
- [34] WU Z, CHEN L, GUO Z, et al. Systems pharmacology uncovers serotonergic pathway mediated psychotherapeutic effects of Lonicerae Japonicae Flos [J]. J Funct Foods, 2019, 60:103407.
- [35] DU H, DING J, WANG P, et al. Anti-respiratory syncytial virus mechanism of *Houttuynia cordata* Thunb exploration based on network pharmacology [J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2021, 24(8):1137-1150.
- [36] HUANG C, LI Z, ZHU J, et al. Systems pharmacology dissection of *Epimedium* targeting tumor microenvironment to enhance cytotoxic T lymphocyte responses in lung cancer [J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(2):2912-2940.
- [37] ARAN D, LASRY A, ZINGER A, et al. Widespread parainflammation in human cancer [J]. Genome Biol, 2016, 17(1):145.
- [38] SCHROEDER A, HERRMANN A, CHERRYHOLMES G, et al. Loss of androgen receptor expression promotes a stem-like cell phenotype in prostate cancer through STAT3 signaling [J]. Cancer Res, 2014, 74(4):1227-1237.
- [39] MAROTTA L L, ALMENDRO V, MARUSYK A, et al. The JAK2/STAT3 signaling pathway is required for growth of CD44⁺CD24⁻ stem cell-like breast cancer cells in human tumors [J]. J Clin Invest, 2011, 121(7):2723-2735.
- [40] DAI K, CHEN L, LIU J, et al. MiR-147a mediated by sodium new houttuifonate could enhance radiosensitivity of non-small cell lung cancer cells via suppressing STAT3 [J]. Adv Clin Exp Med, 2021, 30(2):173-181.
- [41] LAWAL B, KUO Y C, WU A, et al. BC-N102 suppress breast cancer tumorigenesis by interfering with cell cycle regulatory proteins and hormonal signaling, and induction of time-course arrest of cell cycle at G₁/G₀ phase [J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(12):3224-3238.

[责任编辑 顾雪竹]