

## 乌梅丸治疗乳腺癌肺转移的药理机制

刘宇飞<sup>1</sup>, 安甜<sup>1</sup>, 余红<sup>1</sup>, 万冬桂<sup>2</sup>, 樊英怡<sup>3</sup>, 裴晓华<sup>4\*</sup>

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 中日友好医院, 北京 100029;

3. 北京中医药大学第三附属医院, 北京 100029; 4. 北京中医药大学厦门医院, 福建 361001)

**[摘要]** 目的:通过对乌梅丸进行网络药理学分析和实验验证,探讨该方治疗乳腺癌肺转移的潜在靶点及作用机制。方法:通过TCMSP数据库建立乌梅丸有效成分和靶点数据集, GeneCards数据库及OMIM数据库建立乳腺癌肺转移相关靶点数据集,并将中药靶点和疾病靶点数据相匹配。通过Cytoscape 3.6.0软件进行中药-活性成分-治疗靶点的网络分析, STRING数据库分析关键靶点蛋白间的相互作用关系。利用生物学信息注释数据库进行靶点基因本体(GO)分析以及京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析。结果:共发现乌梅丸治疗乳腺癌肺转移有108个可能的重要靶点,包括白细胞介素-6(IL6), 半胱氨酸蛋白酶-3(CASP3), 血管内皮生长因子A(VEGFA), 表皮生长因子受体(EGFR), 丝裂原活化蛋白激酶8(MAPK8)等, GO富集分析得到乳腺癌肺转移相关的29个细胞组分(CC), 1 218个生物学过程(BP)及125个分子功能(MF), KEGG富集分析得到与乳腺癌肺转移相关的118条通路( $P < 0.05$ ), 包括MAPK信号通路、细胞凋亡途径等。体外实验表明, 乌梅丸的有效成分肉桂醛具有诱导乳腺癌MCF7细胞凋亡、抑制增殖和迁移的作用, 一定程度验证了网络药理学的预测结果。结论:乌梅丸对乳腺癌肺转移的治疗作用是多靶点、多途径、多机制的, 本研究结果为乌梅丸的临床应用提供了一定证据支持。

**[关键词]** 乌梅丸; 乳腺癌肺转移; 网络药理学; 分子机制; 肉桂醛

**[中图分类号]** R285; R289; R22; R2-031; R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)09-0193-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20210516

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210224.1343.002.html>

**[网络出版日期]** 2021-2-24 14:07

### Pharmacological Mechanism of Wumeiwan in Treating Lung Metastasis of Breast Cancer

LIU Yu-fei<sup>1</sup>, AN Tian<sup>1</sup>, YU Hong<sup>1</sup>, WAN Dong-gui<sup>2</sup>, FAN Ying-yi<sup>3</sup>, PEI Xiao-hua<sup>4\*</sup>

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China;

3. Beijing University of Chinese Medicine Third Affiliated Hospital, Beijing 100029, China;

4. Xiamen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Fujian 361001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the potential target and mechanism of Wumeiwan in the treatment of lung metastasis of breast cancer by network pharmacological analysis and experimental verification. **Method:** The databases of active ingredients and targets of Wumeiwan were established through Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) Database and Analysis Platform, and the targets of lung metastasis of breast cancer were established through the GeneCards database and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) database, and the data of Chinese medicine targets and disease targets were matched. Cytoscape 3.6.0 software was used to establish the network analysis of traditional Chinese medicine-active ingredients-therapeutic targets, and the interaction relationship between key target proteins was analyzed by STRING database. Target gene ontology (GO) analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) signal pathway

**[收稿日期]** 20201031(009)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81774319);北京中医药大学基本科研业务费(在读研究生项目)(2019-JYB-XS)

**[第一作者]** 刘宇飞, 在读博士, 从事中医药防治乳腺疾病研究, E-mail: 352613396@qq.com

**[通信作者]** \*裴晓华, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事中医药防治乳腺疾病研究, E-mail: pxh\_127@163.com

enrichment analysis were performed by using the Biological Information Annotation Database. **Result:** A total of 108 possible important targets for Wumeiwan in the treatment of lung metastasis of breast cancer were found, including interleukin 6(IL6), cysteine aspartate-specific protease-3(CASP3), vascular endothelial growth factor A(VEGFA), epidermal growth factor receptor(EGFR), mitogen-activated protein kinase(MAPK8), and others. GO enrichment analysis yielded 29 cell components(CC), 1 218 biological processes(BP) and 125 molecular functions(MF) related to lung metastasis of breast cancer, and KEGG enrichment analysis yielded 118 pathways related to lung metastasis of breast cancer( $P<0.05$ ), including MAPK signaling pathway and apoptosis pathway. *In vitro* experiments showed that cinnamaldehyde, the active ingredient of Wumeiwan, could induce apoptosis, inhibit proliferation and migration of MCF7 cells, partially validating the predicted results of network pharmacology to a certain extent. **Conclusion:** The therapeutic effect of Wumeiwan on lung metastasis of breast cancer may be multi-target, multi-pathway and multi-mechanism. The results of this study provide more evidence for the clinical application of Wumeiwan.

**[Key words]** Wumeiwan; lung metastasis of breast cancer; network pharmacology; mechanism; cinnamaldehyde

乳腺癌是女性高发的恶性肿瘤,流行病学数据显示全球每年约139万患者新诊断为乳腺癌,发病率居女性恶性肿瘤的第1位,同时乳腺癌病死率较高,每年病死人数约46万,居女性恶性肿瘤第2位<sup>[1-2]</sup>。在乳腺癌引起的死亡病例中,超过90%归因于与转移相关的并发症<sup>[3]</sup>。肺转移是乳腺癌临床常见的并发症,发病率约21%~32%<sup>[4]</sup>,特别是在初次乳腺癌诊断后的5年内,肺转移往往会发生,转移灶破坏正常的肺功能,导致咳嗽、呼吸困难、咯血等。研究报告,肺转移的患者预后极差,中位生存期仅为25个月<sup>[5]</sup>。乳腺癌肺转移的高发病率和死亡率,给患者和家庭带来沉重负担。提高乳腺癌肺转移患者生存率仍是临床上面临的重要问题。

近年来有关中医药治疗乳腺癌肺转移的报道逐渐增多,如研究发现蛇六谷和莪术的水提取物能下调E-钙黏蛋白(E-cadherin),趋化因子受体7(CCR7)等蛋白表达来抑制小鼠乳腺癌肺转移<sup>[6]</sup>,中药复方癌复康能通过促进免疫重建来抵抗乳腺癌小鼠的肺转移等<sup>[7]</sup>。本团队前期实践发现,中医药辅助治疗乳腺癌肺转移具有良好的临床效果<sup>[8]</sup>。乳腺癌肺转移属于中医“肺积”“息贲”等范畴,其病机复杂,且转移情况多变,与“风善行数变”的发生特点相符合;另外本病多为寒热虚实夹杂,符合厥阴病的表现,《黄帝内经·素问·天元纪大论》云:“厥阴之上,风气主之”,认为乳腺癌肺转移与厥阴风动有关。乌梅丸出自《伤寒论》,是厥阴病的治疗主方,能调理寒热虚实之错杂,亦可敛阴息风。由于目前尚未见有关乌梅丸治疗乳腺癌肺转移的实验报道,因此本研究通过网络药理学分析以及实验验证的

方法,对乌梅丸抗乳腺癌肺转移的主要活性物质、作用靶点及信号通路进行了归纳分析,为乌梅丸应用于乳腺癌肺转移的治疗提供更多证据支持。

## 1 资料与方法

**1.1 药物活性成分筛选** 本研究依托中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)收集乌梅丸药物组成的已知所有成分,通过口服生物利用度(OB)和类药性(DL)对药物的相关活性成分进行筛选,以 $OB\geq 30\%$ , $DL\geq 0.1$ 作为活性成分筛选标准。

**1.2 药物潜在作用靶点的预测** 通过TCMSP平台查询化合物对应靶点,若化合物在平台中无靶点信息,则通过Pubchem数据库检索该成分相关小分子结构信息,利用瑞士靶点预测(STP)根据化学相似性找出靶点。通过Uniprot数据库标准化基因信息,并剔除无人类样本Uniprot ID的基因。

**1.3 乳腺癌肺转移相关靶点的收集** 以“Lung metastasis of breast cancer”为检索词,通过GeneCards数据库以及人类孟德尔遗传数据库(OMIM)检索得到的结果进行结合分析,构建乳腺癌肺转移靶点数据集。

**1.4 蛋白互作网络的构建** 将乌梅丸中活性成分所对应的靶点与乳腺癌肺转移的疾病靶点取交集,所得靶点在STRING数据库中构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)图,进一步通过Cytoscape 3.6.0软件进行拓扑分析,按点度中心性(DC)值降序排列,筛选出乌梅丸治疗乳腺癌肺转移的关键靶点。

**1.5 基因功能注释和通路富集分析** 将匹配得到的靶点运用生物学信息注释数据库(DAVID)进行靶点基因本体(GO)生物学过程分析和京都基因与

基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析,以  $P < 0.05$  为筛选标准。

### 1.6 体外实验验证

**1.6.1 材料** 肉桂醛对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110710-202022),人乳腺癌细胞株 MCF7(北纳生物细胞库,批号 100137);胰蛋白酶,DMEM 高糖培养基,胎牛血清,胎牛血清和 1% 青-链霉素(Gibco 公司,批号分别为 25200072, 11965092, 10100147, 15140122);噻唑蓝(MTT, Sigma 公司,批号 TOX1);Annexin-V/PI 双染试剂盒(Solarbio 公司,批号 CA1020)。

**1.6.2 细胞培养** 将 MCF7 细胞培养于含 10% 胎牛血清,1% 青-链霉素的 DMEM 培养基中,置于 37 °C 5%CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱内培养,每 2~3 d 传代 1 次。取对数生长期细胞用于实验。

**1.6.3 MTT 法检测细胞增殖** 将 MCF7 细胞接种于 96 孔板中,  $8 \times 10^3$  个/孔,置于恒温 37 °C 5%CO<sub>2</sub> 培养箱中,待细胞贴壁后,弃上清,加入肉桂醛 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 160 mg·L<sup>-1</sup>, 每组 6 个复孔,并设置空白对照组。培养箱中继续培养 24 和 48 h 后,每孔加入 5 g·L<sup>-1</sup> 的 MTT 溶液 25 μL,孵育 4 h 后吸弃上清,再加入 DMSO 150 μL,酶标仪 490 nm 波长测定吸光度  $A$ 。

**1.6.4 划痕实验检测细胞迁移力** 将 MCF7 细胞接种于 6 孔板中,  $2 \times 10^5$  个/孔,待细胞贴壁后,用无菌的白色枪头在 96 孔板的中央轻轻划痕,划痕后立即用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗细胞,并在每孔加入不同浓度的肉桂醛,显微镜下观察并拍照,然后放入培

养箱中继续培养,于 24, 48 h 后观察并拍照,计算划痕愈合率。

**1.6.5 流式细胞术检测细胞凋亡** 将对数生长期的 MCF7 细胞以  $1 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板,细胞贴壁后加入不同浓度肉桂醛,终体积为 2 mL。于 48 h 后收集细胞,加入 Annexin V-FITC 和碘化丙啶(PI)各 5 μL,避光孵育 15 min,流式细胞仪上机检测。

**1.6.6 统计学分析** 采用 GraphPad Prism 7 软件对实验结果进行分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用  $t$  检验分析实验组间的差异,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 乌梅丸主要活性成分** 以  $OB \geq 30\%$  和  $DL \geq 0.18$  为条件对乌梅丸药物活性成分进行筛选后,得到黄柏的活性成分 37 个,人参 22 个,肉桂 4 个,附子 21 个,细辛 8 个,黄连 14 个,当归 2 个,花椒 5 个,乌梅 8 个,干姜 5 个。剔除重复数据后剩余主要活性成分 100 个(按 DL 降序列出前 25 项,见表 1),构建药物-活性成分网络,见图 1。

**2.2 乌梅丸抗乳腺癌肺转移作用靶点及核心活性成分** 根据 TCMSP 数据库中的活性成分靶点信息,并结合 STP 靶点预测结果,共收集到中药活性成分的相关作用靶点共 124 个。通过检索 GeneCards 和 OMIM 数据库,整合后得到乳腺癌肺转移靶点 8 199 个。将药物相关靶点与疾病相关靶点进行匹配,得到 108 个乌梅丸抗乳腺癌肺转移的可能作用靶点。将 108 个作用靶点与其对应的中药活性成分进行关联,构建活性成分-疾病靶点网络,

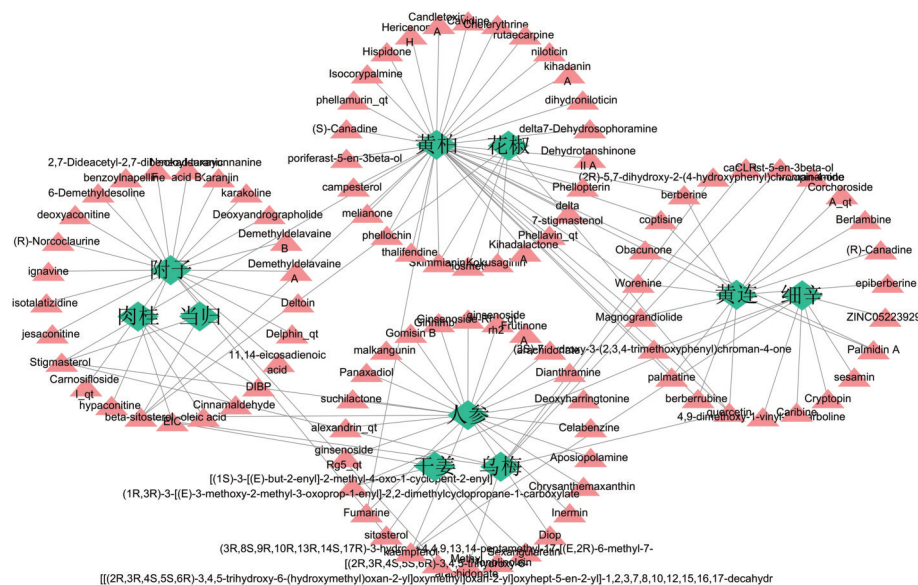


图 1 乌梅丸药物-活性成分网络

Fig. 1 Drug-active component network of Wumeiwan

表1 乌梅丸主要活性成分

Table 1 Main active ingredients of Wumeiwan

系统编号	活性成分名称	OB/%	DL	药物来源
MOL002668	甲基黄连碱	45.83	0.87	黄柏、黄连
MOL001458	黄连碱	30.67	0.86	黄柏、黄连
MOL002401	新五味子酸B	43.1	0.85	附子
MOL002673	鬃毛酮	36.18	0.83	黄柏
MOL000787	原阿片碱	59.26	0.83	黄柏、人参
MOL005357	五味子酯乙	31.99	0.83	人参
MOL012141	水鬼蕉宾碱	37.06	0.83	细辛
MOL001558	芝麻素	56.55	0.83	细辛
MOL009849	细辛脂素	31.57	0.83	细辛
MOL002636	基哈达内酯A	34.21	0.82	黄柏
MOL002660	尼洛替星	41.41	0.82	黄柏
MOL006392	二氢尼洛替星	36.43	0.82	黄柏
MOL006413	黄柏呈	35.41	0.82	黄柏
MOL002904	氧化小檗碱	36.68	0.82	黄连
MOL002670	卡维丁	35.64	0.81	黄柏
MOL005317	去氧三尖杉酯碱	39.27	0.81	人参
MOL002434	肉质雪胆皂苷 I	38.16	0.80	附子
MOL005376	人参二醇	33.09	0.79	人参
MOL005401	人参皂苷 Rg5	39.56	0.79	人参
MOL001454	黄连素	36.86	0.78	黄柏、黄连
MOL002666	白屈菜红碱	34.18	0.78	黄柏
MOL006401	苦楝子酮	40.53	0.78	黄柏
MOL005348	人参皂苷 Rh <sub>4</sub>	31.11	0.78	人参
MOL002897	表小檗碱	43.09	0.78	黄连
MOL002907	黄麻苷 A	104.95	0.78	黄连

根据中介中心性(BC)对活性成分进行降序排列,筛选出核心活性成分包括槲皮素(querctetin, MOL000098),山柰酚(kaempferol, MOL000422),芝麻素(sesamin, MOL001558)及β-谷甾醇(beta-

sitosterol, MOL000358)等。见图2。

2.3 PPI分析 在STRING数据库中构建上述108个乌梅丸抗乳腺癌肺转移靶点的蛋白互作网络,见图3。此网络共包含108个节点,1 039条边。按点度中心性值降序排列后对核心作用靶点进行筛选,得到的前五位核心靶点包括白细胞介素6(IL6),半胱氨酸蛋白酶3(Caspase-3或CASP3),血管内皮生长因子A(VEGFA),表皮生长因子受体(EGFR)以及丝裂原激活蛋白激酶8(MAPK8),见图4。

2.4 GO和KEGG通路富集分析 研究对108个靶点进行富集分析,GO分子功能(MF)分析得到125条结果,包括DNA结合转录激活因子活性, RNA聚合酶II特异性(DNA-binding transcription activator activity, RNA polymerase II -specific, GO:0001228),核受体活性(nuclear receptor activity, GO:0004879),转录因子活性,直接配体调节的序列特异性DNA结合(transcription factor activity, direct ligand regulated sequence-specific DNA binding, GO:0098531)等;GO生物过程(BP)分析得到1 218个结果,包括对类固醇激素的反应(response to steroid hormone, GO:0048545),对含氧量的反应(response to oxygen levels, GO:0070482),对酮的反应(response to ketone, GO:1901654)等;GO细胞组分(CC)分析得到29个结果,包括转录因子复合物(transcription factor complex, GO:0005667),膜筏(membrane raft, GO:0045121),膜微区(membrane microdomain, GO:0098857)等,见图5。KEGG通路富集分析获得相关通路118条,其中关键通路包括MAPK信号通路(MAPK signaling pathway, hsa04010),磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B信号通路(PI3K/Akt signaling pathway, hsa04151),细胞凋亡(Apoptosis, hsa04210),肿瘤坏死因子(TNF)信号通路(TNF signaling pathway, hsa04668),低氧诱导因

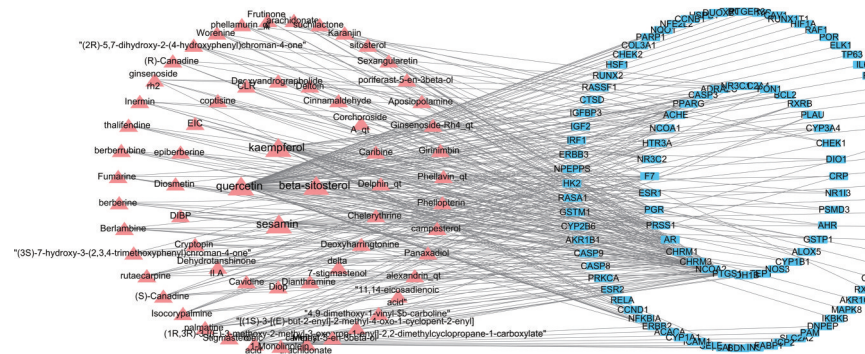


图2 活性成分-疾病靶点网络

Fig. 2 Active components-disease targets network

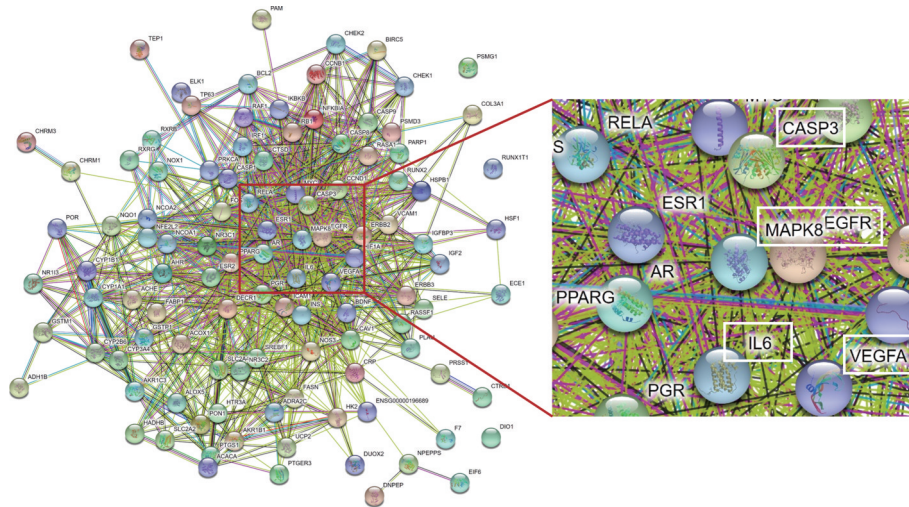


图3 乌梅丸治疗乳腺癌肺转移蛋白互作网络

Fig. 3 PPI network diagram of Wumeiwan in treatment of breast cancer lung metastases

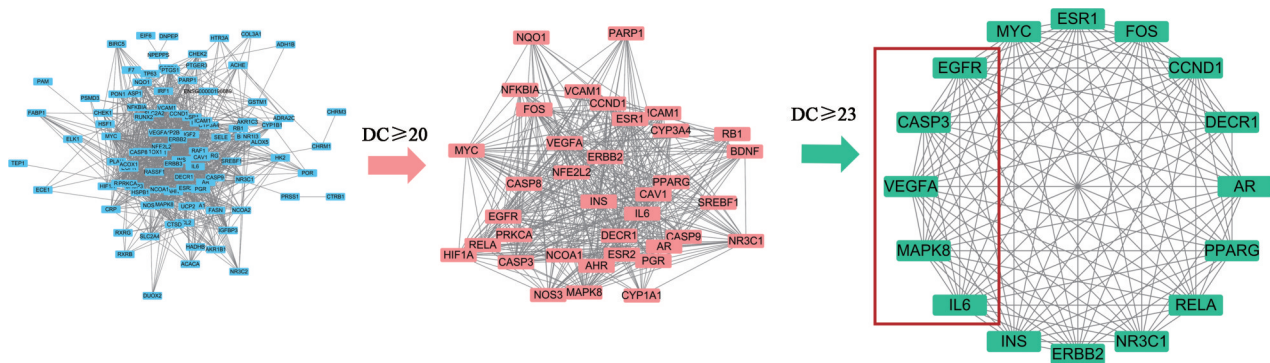


图4 乌梅丸治疗乳腺癌肺转移核心靶点筛选

Fig. 4 Core targets of Wumeiwan in treatment of breast cancer lung metastases

子-1 信号通路(HIF-1 signaling pathway, hsa04066) 等,见表2,图6。

## 2.5 体外实验

2.5.1 肉桂醛对乳腺癌 MCF7 细胞增殖的影响  
MTT 结果显示,随着药物浓度的增加,肉桂醛对

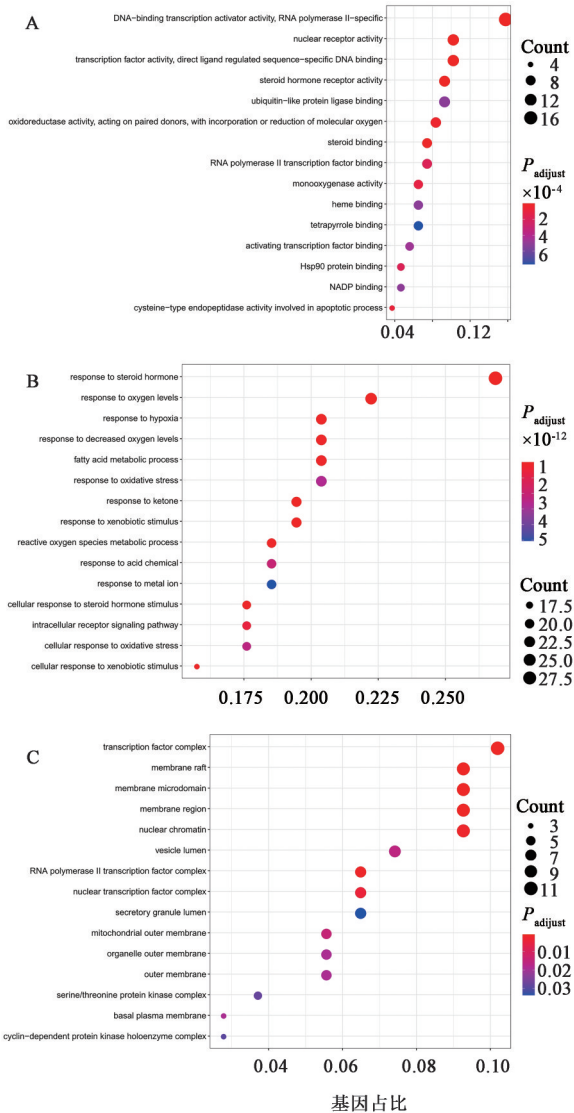
MCF7 细胞的抑制作用逐渐增强,见图 7。24, 48 h 的半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)分别为 36.35, 20.57 mg·L<sup>-1</sup>。

2.5.2 肉桂醛对乳腺癌 MCF7 细胞形态及迁移的影响  
质量浓度为 15, 20, 25 mg·L<sup>-1</sup> 肉桂醛作用于 MCF7 细胞 24, 48 h 后,细胞的萎缩加剧,纤维变短,

表2 乌梅丸治疗乳腺癌肺转移关键通路

Table 2 Core pathways of Wumeiwan in treatment of breast cancer lung metastases

系统编号	通路名称	P	基因数/个	基因名称
hsa04010	MAPK signaling pathway	7.92×10 <sup>-9</sup>	18	CASP3, PRKCA, RELA, EGFR, VEGFA, FOS, ELK1, RAF1, ERBB2, MYC, HSPB1, IGF2, ERBB3, RASA1, BDNF, INS, IKBKB, MAPK8
hsa04151	PI3K-Akt signaling pathway	1.39×10 <sup>-7</sup>	18	CHRM1, BCL2, CASP9, PRKCA, RELA, EGFR, VEGFA, CCND1, IL6, RAF1, ERBB2, MYC, NOS3, IGF2, ERBB3, BDNF, INS, IKBKB
hsa04210	apoptosis	6.06×10 <sup>-9</sup>	13	BCL2, CASP9, CASP3, CASP8, RELA, FOS, NFKBIA, RAF1, BIRC5, PARP1, CTSD, IKBKB, MAPK8
hsa04668	TNF signaling pathway	6.60×10 <sup>-9</sup>	12	CASP3, CASP8, RELA, FOS, IL6, NFKBIA, ICAM1, SELE, VCAM1, IRF1, IKBKB, MAPK8
hsa04066	HIF-1 signaling pathway	5.52×10 <sup>-8</sup>	11	BCL2, PRKCA, RELA, EGFR, VEGFA, IL6, HIF1A, ERBB2, NOS3, HK2, INS



A. 分子功能分析; B. 生物过程分析; C. 细胞组分分析  
图 5 乌梅丸治疗乳腺癌肺转移 GO 分析

Fig. 5 GO analysis of Wumeiwan in treatment of breast cancer lung metastases

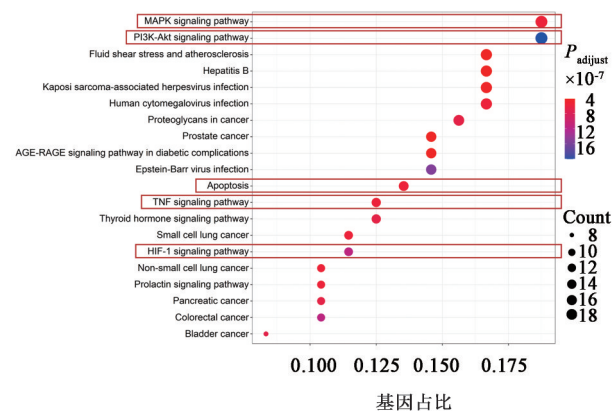


图 6 乌梅丸治疗乳腺癌肺转移 KEGG 分析  
Fig. 6 KEGG analysis of Wumeiwan in treatment of breast cancer lung metastases

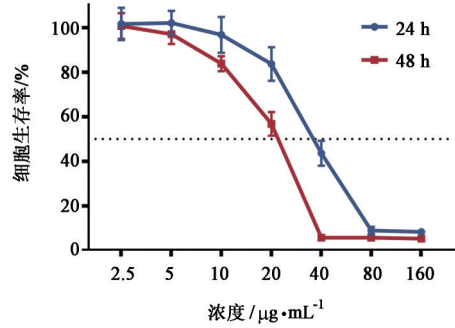
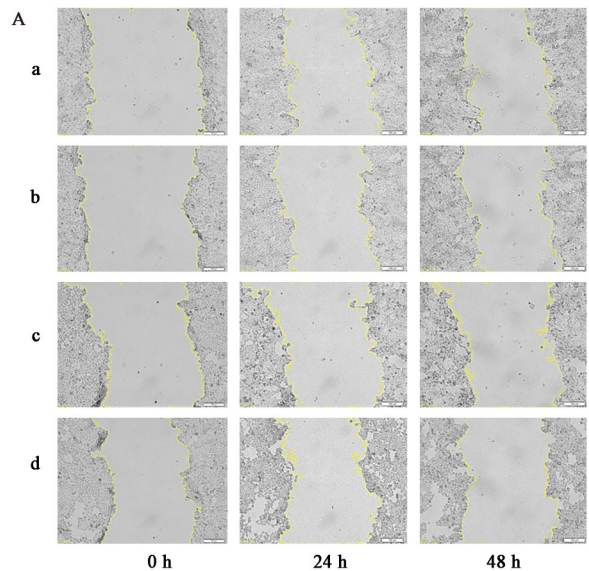


图 7 肉桂醛对 MCF7 细胞增殖的抑制率

Fig. 7 Inhibition rate of cinnamaldehyde on growth of MCF7 cells

部分细胞开始簇集成团, 细胞折光性增加, 悬浮细胞明显增多。对照组划痕区域的 MCF7 细胞发生明显迁移, 而不同浓度肉桂醛干预的 MCF7 细胞愈合程度呈降低趋势, 以 20, 25 mg·L<sup>-1</sup> 肉桂醛作用效果最为明显, 见图 8。

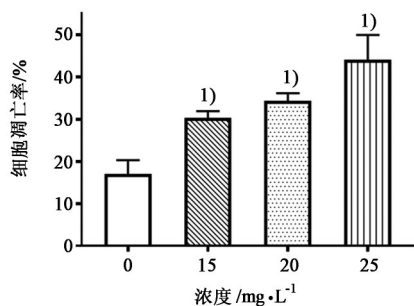


A. 细胞划痕; B. 划痕愈合面积折线; a. 空白组; b~d. 桂皮醛 15, 20, 25 mg·L<sup>-1</sup> 组; 与空白组比较 <sup>1)</sup>P<0.01  
图 8 肉桂醛对 MCF7 细胞迁移的影响

Fig. 8 Effect of cinnamaldehyde on morphology of MCF7 cells

2.5.3 肉桂醛对乳腺癌 MCF7 细胞凋亡的影响 与常规培养 MCF7 细胞 48 h 相比, 肉桂醛 15, 20, 25 mg·L<sup>-1</sup> 作用于细胞 48 h 后, 细胞凋亡率显著增

加,见图9。



与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$

图9 肉桂醛对MCF7细胞凋亡的影响

Fig. 9 Cinnamaldehyde induces apoptosis in MCF7 cells

### 3 讨论与结论

乌梅丸是《伤寒论》中经典方剂,全方由乌梅、肉桂、附子、细辛、花椒、干姜、黄连、黄柏、人参、当归10味药组成,具有辛散酸收并用的组方特点。方中乌梅味酸属木,其性收敛,正与风属阳邪、其性开泄的特点相对,能疏泻厥阴,调畅气机;肉桂、附子、干姜、细辛、花椒等辛热之品能温阳固本,以除脏寒;人参益气、当归养血,合而扶正补虚;黄连、黄柏苦寒清热,与辛药并用而共调寒热,兼以制诸辛。乌梅丸全方辛开与酸收相和,开达表里,顺接阴阳,能破除寒热之格拒,使一身之气得以升降有序。

现代研究报道乌梅丸治疗各类肿瘤的临床疗效确切,包括肺癌、食管癌、胃癌、胰腺癌、大肠癌、卵巢癌等<sup>[9]</sup>。乌梅丸能减轻胰腺癌患者疼痛症状,改善中医证候评分,提高生活质量<sup>[10]</sup>。晚期胆道癌患者采用乌梅丸联合靶向药治疗后,癌性疼痛缓解,体力状况改善,且乌梅丸一定程度上能降低靶向药带来的毒副作用,具有较高的临床应用价值<sup>[11]</sup>。本团队在临床观察中发现,乌梅丸对乳腺癌肺转移患者症状改善、延长生存期方面具有显著治疗作用,因此拟进一步通过网络药理分析、实验验证的方法探索乌梅丸治疗乳腺癌肺转移的靶点和作用机制,为该方治疗乳腺癌肺转移提供更多证据支持。

通过本研究发现,乌梅丸治疗乳腺癌肺转移的核心有效成分包括槲皮素,山柰酚,芝麻素, $\beta$ -谷甾醇等。①槲皮素对H3122细胞的上皮间质转化(EMT)具有抑制作用,通过提高E-cadherin,ZO-1表达,降低纤维粘连蛋白(Fibronectin),波形蛋白(Vimentin)的表达,减少细胞分泌表皮细胞生长因子(EGF),肝细胞生长因子(HGF)以及抑制表达Snail转录因子的能力,从而抑制H3122细胞侵

袭<sup>[12]</sup>。②山柰酚能通过抑制雌激素受体相关受体 $\alpha$ (ERR $\alpha$ )表达来降低A549细胞侵袭和迁移能力,同时下调N-钙黏蛋白(N-cadherin)和Snail-2的表达,上调E-cadherin的表达<sup>[13]</sup>。③芝麻素能抑制H460细胞的增殖,与顺铂联合给药后能产生协同效应,其作用机制与下调细胞内Akt等蛋白表达相关<sup>[14]</sup>。④ $\beta$ -谷甾醇对A549细胞具有增殖抑制效果,主要通过将细胞周期阻滞于G<sub>2</sub>/M期而发挥作用,另外 $\beta$ -谷甾醇也能促进A549细胞凋亡<sup>[15]</sup>。

蛋白互作分析发现,乌梅丸治疗乳腺癌肺转移的核心蛋白包括IL6, VEGFA, Caspase-3, EGFR, MAPK8等。IL6与多种恶性肿瘤的转移密切相关,IL6通过调控白细胞介素6受体(IL6R)能影响癌细胞EMT,促进肿瘤的侵袭和转移<sup>[16]</sup>。VEGFA是血管内皮生长因子家族成员之一,肿瘤细胞分泌VEGFA有助于新生血管形成,从而促进肿瘤的发生发展<sup>[17]</sup>。Caspase-3是细胞凋亡的核心蛋白,激活的Caspase-3能激活核酸内切酶,使DNA在核小体单位之间的连接处断裂,从而促进癌细胞凋亡<sup>[18]</sup>。EGFR是表皮生长因子(EGF)信号传导的受体,在癌细胞中异常表达,负责调控肿瘤的增殖与转移<sup>[19]</sup>,MAPK信号途径是EGFR的胞内下游信号通路<sup>[20]</sup>,MAPK8是有丝分裂原活化蛋白激酶家族的重要成员,可磷酸化并激活转录因子激活子蛋白1(AP-1),进一步激活下游一系列蛋白,从而在细胞凋亡等方面发挥调控作用<sup>[21]</sup>。

通路富集结果显示,乌梅丸治疗乳腺癌肺转移可能与调控MAPK信号通路,PI3K/Akt信号通路,细胞凋亡途径,TNF信号通路,HIF-1信号通路相关,结合这些通路的作用特点,可以推测乌梅丸对转移性癌细胞具有抑制增殖和迁移、促进凋亡的作用<sup>[22-23]</sup>。肉桂是乌梅丸中热性成分的主要代表药物,而肉桂醛是肉桂的主要化学成分<sup>[24]</sup>,因此本研究在体外实验中选用肉桂醛对MCF7细胞进行干预,观察肉桂醛对MCF7细胞产生的作用。结果表明肉桂醛对MCF7细胞具有增殖抑制作用,划痕实验表明肉桂醛降低了MCF7细胞的迁移力,流式细胞术结果发现肉桂醛对MCF7细胞有显著的促进凋亡作用。查阅相关研究报道,肉桂醛的作用机制可能上调Caspase-3和Bax表达,降低Bcl-2,VEGF等蛋白表达相关<sup>[25]</sup>。这些实验结论一定程度上与网络药理学的蛋白互作及通路分析结果一致。

其他相关研究也佐证了网络药理学的分析结论,发现槲皮素通过上调Bax表达和下调Bcl-2表达

能诱导 MCF7 细胞凋亡,同时槲皮素能明显降低 MCF7 干细胞(CSC)的生存能力,其机制与降低 mTOR, p-mTOR, PI3K, p-PI3K, Akt 和 p-Akt 蛋白的表达相关<sup>[26]</sup>。山柰酚能抑制 MCF7 细胞迁移和侵袭,并通过下调 Bcl-2 等蛋白表达促进细胞凋亡<sup>[27-28]</sup>。

综上所述,乌梅丸在乳腺癌肺转移的治疗上具有潜在的应用价值,该方可能通过不同靶点、不同信号通路之间的作用,共同达到治疗目的。本研究初步验证了乌梅丸的主要化学成分肉桂醛对乳腺癌转移癌细胞的抑制增殖、抑制迁移、促进凋亡作用,而今后的研究可进一步围绕通路及蛋白分析结果进行深入探索,为乌梅丸治疗乳腺癌肺转移提供更多证据支持,为临床应用提供更多科学依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1): 7-30.

[2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.

[3] MEDEIROS B, ALLAN A L. Molecular Mechanisms of Breast Cancer Metastasis to the Lung: Clinical and Experimental Perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9):2272.

[4] WU Q, LI J, ZHU S, et al. Breast cancer subtypes predict the preferential site of distant metastases: a SEER based study [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 27990-27996.

[5] XIAO W, ZHENG S, LIU P, et al. Risk factors and survival outcomes in patients with breast cancer and lung metastasis: a population-based study [J]. *Cancer Med*. 2018, 7(3):922-930.

[6] 高秀飞,刘培,葛玉清. 蛇六谷和莪术提取物对小鼠乳腺癌肺转移模型的影响 [J]. *浙江中医杂志*, 2018, 53(8):572-575.

[7] 朱华宇,钟少文,李玉洁,等. 中药癌复康对重症联合免疫缺陷鼠人乳腺癌肺转移及免疫重建的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2016, 25(15): 1597-1599, 1603.

[8] 赵乐,裴晓华,王春晖. 王沛教授运用疏补相合方治疗乳腺癌术后肺转移经验 [J]. *中医学报*, 2014, 29(9):1285-1287.

[9] 王萍,杨海燕. 厥阴病主方乌梅丸论治恶性肿瘤的研究现状 [J]. *中医药信息*, 2020, 37(3): 112-115.

[10] 秦阳. 乌梅丸加减治疗胰腺癌(寒热错杂证)的临床研究 [D]. 长春:长春中医药大学, 2019.

[11] 唐冠豪. 加味乌梅丸方联合阿法替尼参与下 40 例晚期胆道癌真实诊疗分析 [D]. 合肥:安徽中医药大学, 2019.

[12] 赵存玲,郭风龙,谈燕燕,等. 槲皮素通过 EMT 途径抑制 H3122 细胞迁移 [J]. *河北医药*, 2019, 41(2): 170-173.

[13] 张敬,史晓宇,孟玮,等. 山柰酚通过下调 ERR $\alpha$  抑制非小细胞肺癌 A549 细胞的侵袭和迁移 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(12): 1230-1236.

[14] 刘冰,陈岳铭,李华超. 芝麻素联合顺铂抗肺癌细胞 H460 的作用机制研究 [J]. *广东药科大学学报*, 2019, 35(2):252-255.

[15] 周玲玉,徐彩,王乐琴,等.  $\beta$ -谷甾醇对人肺癌 A549 细胞增殖及凋亡的影响 [J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(7):865-867.

[16] ROKAVEC M, ÖNER MG, LI H, et al. IL-6R/STAT3/miR-34a feedback loop promotes EMT-mediated colorectal cancer invasion and metastasis [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(4): 1853-1867.

[17] 刘黎,董华琼,张匠,等. miRNA-613 靶向 VEGFA 调控乳腺癌细胞吉西他滨耐药性的机制研究 [J]. *癌症进展*, 2019, 17(13): 1551-1556.

[18] 董奕裕,黄晓文,李建兰. Talin2 通过 Caspase3 信号通路调控乳腺癌细胞侵袭 [J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(3):311-316.

[19] 传锋彬,王雯,王立宏. EGFR 介导的信号通路影响肺癌细胞增殖与转移的机制 [J]. *实用癌症杂志*, 2020, 35(9):1429-1432, 1436.

[20] WANG J, JIA Y, ZHAO S, et al. BIN1 reverses PD-L1-mediated immune escape by inactivating the c-MYC and EGFR/MAPK signaling pathways in non-small cell lung cancer [J]. *Oncogene*, 2017, 36(45): 6235-6243.

[21] BUBICI C, PAPA S. JNK signalling in cancer: in need of new, smarter therapeutic targets [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(1): 24-37.

[22] SUN Y, LIU WZ, LIU T, et al. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2015, 35(6): 600-604.

[23] LEAL-ORTA E, RAMIREZ-RICARDO J, CORTES-REYNOSA P, et al. Role of PI3K/Akt on migration and invasion of MCF10A cells treated with extracellular vesicles from MDA-MB-231 cells

- stimulated with linoleic acid [J]. *J Cell Commun Signal*, 2019, 13(2):235-244.
- [24] LU QY, SUMMANEN PH, LEE RP, et al. Prebiotic potential and chemical composition of seven culinary spice extracts [J]. *J Food Sci*. 2017, 82(8):1807-1813.
- [25] KUBATKA P, KELLO M, KAJO K, et al. Chemopreventive and therapeutic efficacy of *Cinnamomum zeylanicum* L. bark in experimental breast carcinoma: Mechanistic *in vivo* and *in vitro* analyses[J]. *Molecules*, 2020, 25(6):1399.
- [26] LI X, ZHOU N, WANG J, et al. Quercetin suppresses breast cancer stem cells (CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>) by inhibiting the PI3K/Akt/mTOR-signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2018, 19(6):56-62.
- [27] YI X, ZUO J, TAN C, et al. Kaempferol, a flavonoid compound from *Gynura medica* induced apoptosis and growth inhibition in mcf-7 breast cancer cell [J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2016, 13(4):210-215.
- [28] LEE G A, CHOI K C, HWANG K A. Kaempferol, a phytoestrogen, suppressed triclosan-induced epithelial-mesenchymal transition and metastatic-related behaviors of MCF-7 breast cancer cells [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2017, 49(6):48-57.
- [责任编辑 顾雪竹]

·书讯·

## 康复护理模式在原发性帕金森病人护理中的应用 ——评《帕金森病居家康复指导》

帕金森病是指中老年患者出现椎体外系统变性疾病。该疾病致残率较高,严重影响了患者自理能力,降低患者的整体生活质量,容易引发患者在心理与情感方面的双重障碍。针对原发性帕金森病患者的康复护理模式来看,它是目前神经内科临床护理工作所重点关注的问题。

《帕金森病居家康复指导》陈颖编纂,电子工业出版社于2019年9月出版。该书针对帕金森病患者如何在患病后治疗该疾病,破解某些功能性障碍,给出了专业的康复训练方法,提出了康复训练护理模式,鼓励患者在家中自我锻炼,在家人正确辅助下护理、照顾患者,为患者提供家庭环境改造与辅助器具使用方法,保证帕金森病患者居家康复指导到位。该书从对帕金森病的基本知识认知到帕金森病的预防及治疗措施;从帕金森病的康复护理模式讨论到帕金森病患者的家庭环境改造,详细介绍了帕金森病患者在康复护理治疗过程中所必须做好的每一细节。就原发性帕金森病患者而言,针对他们所开展的居家康复护理模式更加方便,其中主要涉及到患者的病情状况、自理能力分析,结合针对患者的全面评估来了解其自理能力与病情进展状况,为患者制定康复护理方案,确保在实施过程中对患者具体情况进行改进,保证评估实施效果到位。具体来说,其针对原发性帕金森病患者的康复护理模式内容包括针对患者的语言功能训练,在沟通过程中要给予患者充足的时间允许他们表达自己的真实需求,同时也为患者营造良好的语言氛围,可采用交流板与大声朗读方法,鼓励患者多说话、多阅读、多交流,以有效实现语言功能康复训练,延缓病情继续发展。在呼吸功能训练方面,主要训练了患者的腹式呼吸能力,具体做法是要求患者将右手放在自己的腹部位置,缓慢呼气,最大限度向内收缩腹部,然后始终保持胸部位置不变;在面部表情训练方面,则希望患者用自己的拇指、食指掐住脸蛋,用指尖轻轻叩击整个面部,此时要求患者反复睁开、闭合双眼,同时左右轮换鼓腮,不停张口闭口呼气吸气,再前后左右运动下颌,运动过程中要做到舌头伸出;在肢体功能训练方面,根据患者的实际病情实施不同肢体训练活动内容,如患者存在肢体功能障碍,就需要在早期指导患者进行慢跑、太极拳、散步等。在晚期则要求患者进行被动运动,所谓被动运动并非是评价患者主观能动性而展开的运动方式,而是采用先按摩、后放松肌肉、再活动关节等基本方法,它基本遵从了从远端到近端、从小关节到大关节循序渐进治疗的基本原则,同时注重对患者步态的纠正。在患者住院期间,康复护理模式是定期开始的,患者平时应做到生活自理,多在康复训练室集中训练,每日训练2次,由专业医生指导完成,避免受伤。一般情况,患者每周要训练至少6次。如果生活无法自理的患者则可提供患者病床旁康复训练与康复指导,保证做到每日1次。

该书中探讨了对原发性帕金森病患者实施康复护理模式的必要性。其疾病作为临床上相对常见的中老年神经系统退行性疾病,我国已经拥有了超过200万例患者,且患者数量还在持续增长中。预计到2030年,全国帕金森病患者数量会达到目前的2倍甚至更多,而全世界患者数量也将达到1000万以上。康复护理模式对于原发性帕金森病患者病情恢复帮助很大,首先其康复护理模式就能为患者最大限度保持直挺姿态,避免其过早出现头部前倾、躯干俯躯等问题,始终保持关节大范围活动。其次,它能为患者建立相对良好的生活习惯,帮助提高患者生活中的自理能力,树立他们战胜疾病、康复的信心与决心,大幅度提高患者的生活质量,同时也为患者减轻家庭负担。在书中也谈到了康复护理模式实施过程中患者心理与情绪的有效管理措施,要时刻关注患者的心理反应变化,充分考虑到疾病影响对于患者所带来的孤独、自卑、不安全感等情绪,思考疾病恢复与现实中所存在的现实差距,为患者做好心理护理,帮助他们解除心理压力,帮助他们树立自信心。

(作者刘海兰,忻婷婷,张家口市第一医院,河北 张家口 075000)