

基于网络药理学和靶向验证探讨木犀草素治疗结肠癌的作用机制

王松, 陈娟娟, 赵院霞, 薛莹, 鲁春云, 杜书章*

郑州大学第一附属医院 药学部, 河南 郑州 450052

摘要: **目的** 基于网络药理学和靶向验证探讨木犀草素治疗结肠癌的作用机制。**方法** 基于网络药理学筛选木犀草素治疗结肠癌的潜在靶点, 通过蛋白互作网络进一步筛选核心靶点, 基于核心靶点进行京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 分析, 找到关键的作用通路; 根据找到的关键靶点及通路进行在体结肠癌移植瘤模型的药理实验验证。采用 ELISA 试剂盒检测关键指标的水平, 采用苏木精-伊红 (HE) 染色评价药物对肿瘤的病理学改变, 采用免疫组织化学法及免疫印迹法检测肿瘤关键靶蛋白的表达。**结果** 木犀草素可能主要作用于白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等靶点, 影响 Toll 样受体 (TLR)/髓样分化因子 88 (MyD88)/核因子- κ B (NF- κ B) 信号通路起到治疗肿瘤的效果。实验验证结果显示, 木犀草素显著降低了荷瘤小鼠机体的 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平, 改善了机体的氧化应激状态[提升超氧化物歧化酶 (SOD) 水平, 降低丙二醛 (MDA) 水平], 抑制了 TLR/MyD88/NF- κ B 信号通路的表达。**结论** 木犀草素具有显著的抗结肠癌效果, 可能是通过降低机体炎症水平、改善氧化应激状态以及抑制 TLR/MyD88/NF- κ B 通路表达实现的。

关键词: 木犀草素; 网络药理学; 分子对接; 结肠癌; Toll 样受体/髓样分化因子 88/核因子- κ B 信号通路; 白细胞介素-6

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)04-0788-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.04.006

Effect and mechanism of luteolin in treatment of colon cancer based on network pharmacology and targeted validation

WANG Song, CHEN Juan-juan, ZHAO Yuan-xia, XUE Ying, LU Chun-yun, DU Shu-zhang

Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect and mechanism of luteolin in treatment of colon cancer based on network pharmacology and targeted validation. **Methods** Potential targets of luteolin in treatment of colon cancer were screened based on network pharmacology, and the core targets were further screened by protein network interaction. KEGG analysis was performed based on the core targets to find the key pathways. According to the key targets and identified pathways, pharmacological experiments were carried out to verify in colon cancer model. ELISA kit was used to detect the content level of key indicators, HE staining was used to evaluate the pathological changes of the drug on the tumor. Immunohistochemistry and Western blotting were used to detect the expression of key target proteins of the tumor. **Results** Luteolin may mainly act on IL-6, IL-1 β , TNF- α and affect TLR/MyD88/NF- κ B signaling pathway to play a therapeutic effect on tumors. The experimental results showed that luteolin significantly reduced the level of IL-6, IL-1 β , TNF- α , and improved the oxidative stress state (increasing SOD level, decreasing MDA level), and inhibited the expression of TLR/MyD88/NF- κ B signaling pathway in tumor mice. **Conclusion** Luteolin has a significant anti-tumor effect on colon cancer, which may be achieved by reducing the level of inflammation, improving oxidative stress, and inhibiting TLR/MyD88/NF- κ B.

Key words: luteolin; network pharmacology; molecular docking; colon cancer; TLR/MyD88/NF- κ B signaling pathway; IL-6

近年来, 中药因其较高的有效性和安全性等综合治疗效果在临床应用日益广泛, 其多层次、多靶

点、多通路的治疗机制是其发挥药效的主要途径^[1]。随着网络药理学技术的发展, 中药药理学研究的效

收稿日期: 2022-12-09

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目 (2018020135)

作者简介: 王松, 男, 副主任药师, 硕士, 研究方向为中药药理学。E-mail: 470373072@qq.com

*通信作者: 杜书章, 男, 主任药师, 研究方向为医院药学。E-mail: dushuzhang911@163.com

率大大提升,该技术能够为研究者们提供中药治疗疾病的可能关键靶点,为药理学实验指明了方向^[2];同时,分子对接技术的“多靶点-单配体”对接模式能够根据空间和能量匹配,小分子中药单体可以和生物大分子相互识别形成分子复合物,从而有效预测药物潜在作用的靶点,因此,在中药药效成分的虚拟筛选中显示出了独特的优势,为中药新药研发奠定了科学的理论依据。

木犀草素属于黄酮类化合物,具有显著的抗炎、抗氧化、抗肿瘤和抗病毒等多种药理学活性^[3]。查阅文献发现,木犀草素在抗结肠癌方面具有一定的作用,然而其相关机制尚未完全明确^[4-5]。因此,本研究基于“网络药理学-分子对接-靶向验证”的策略,高效筛选出木犀草素治疗结肠癌的作用靶点及关键通路,并通过在体动物模型验证其科学性,以明确其相关机制。本研究将为结肠癌的治疗及靶点药物开发奠定一定的前期基础,并且为今后的中药药理研究提供了科学的借鉴思路。

1 材料

1.1 主要仪器

Spectramax M5 型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);ChemiDoc XRS+型凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 伯乐公司);JYD-900 型超声波破碎仪(上海之信仪器有限公司);Cytoscape 3.7.2 软件;OpenBabel 3.1.1 软件;AutoDockTools-1.5.7 软件。

1.2 主要药品与试剂

木犀草素(质量分数 97%,批号 111520-202105)购自中国食品药品检定研究院;5-氟尿嘧啶(质量分数 97%,批号 F8300-1)购自北京索莱宝科技有限公司;白细胞介素-6(IL-6,批号 GB300007)、白细胞介素-1 β (IL-1 β ,批号 GB300002)、肿瘤细胞坏死因子- α (TNF- α ,批号 GB300031)酶联免疫试剂盒购自武汉赛维尔生物科技有限公司;超氧化物歧化酶(SOD,批号 A001-3-2)、丙二醛(MDA,批号 A003-1-2)试剂盒购自于南京建成生物有限公司。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH,批号 GB15002)、Toll 样受体 2(TLR2,批号 GB113504)、Toll 样受体 4(TLR4,批号 GB11519)、髓样分化因子 88(MyD88,批号 GB111554)、磷酸化核因子-p65 蛋白(p-P65,批号 GB113882)、P65(批号 GB11997)、HRP-山羊抗兔抗体(批号 GB23303)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.3 动物与细胞

30 只 SPF 级 BALB/c 裸鼠,动物生产许可证号 SCXK(豫)2017-0001,雌性,4 周龄,体质量 13~17 g,购自郑州大学动物中心,饲养在(23 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C 的空调房中,光照/黑暗周期为 12 h;自由饮水和食物。结肠癌 HCT-116 细胞(批号 CL-0096)购自武汉普诺赛生命科技有限公司,细胞在 10%胎牛血清的 MEM 培养基中培养,所有细胞都保存在 37 $^{\circ}$ C,5% CO₂ 的培养箱中。所有动物实验操作按照郑州大学实验动物伦理指南进行(ZZU-LAC-20220311)。

2 方法

2.1 木犀草素的潜在靶点预测

基于 TCMSP(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)、SwissTargetPrediction(<http://swisstargetprediction.ch/>)、STITCH(<http://stitch.embl.de/>)、SEA(<http://sea.edbc.org>)数据预测木犀草素靶点,并在 Uniport 数据库更改为统一的靶点名。

2.2 结肠癌的潜在靶点预测

以“colon cancer”为关键词,基于 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、OMIM(<http://www.omim.org/>)、CTD(<http://ctdbase.org/>)、TTD(<http://db.idrblab.net/ttd/>)、DisGeNET(<http://www.disgenet.org/home/>)数据库查找结肠癌相关靶点。

2.3 构建“木犀草素-疾病-靶点”网络

将木犀草素及结肠癌的潜在作用靶点取交集同时导入 Cytoscape 3.7.2 软件,构建“木犀草素-疾病-靶点”网络图,分析网络拓扑性质,采用 Network Analyzer 插件进行数据处理。

2.4 蛋白相互作用(PPI)网络构建及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析

将潜在靶点导入 String 数据库,勾选 multiple proteins,物种选择 homo sapiens,构建 PPI 关系图,并再次深入分析,筛选核心靶点。将核心靶点导入 DAVID 数据库,设置 $P < 0.05$,进行 KEGG 分析,最后按照其富集的靶点数目及重要性依次进行排序,选取排名靠前的 10 个条目绘制条形图。

2.5 分子对接分析

首先,从 RCSB PDB 在线平台(<http://www.rcsb.org/>)导出与关键靶点相关的 3D 蛋白结构并导出为 PDB 格式。然后,从 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载活性化合物的 3D 结构,以 SDF 格式存储。随后导入 OpenBabel 3.1.1 软件转化为 AutoDock 可以识别的格式。使用

Pymol 对活性化合物和蛋白结构进行去水, 去除小分子的操作, 并导入 AutoDockTools 1.5.7 软件将活性化合物设置为配体(加全氢、检测设置扭转键), 蛋白结构设置为受体(加全氢), 同时转换为“pdbqt”格式; 运行 AutoDock4(设置对接 Box、对接参数、运算方法等)进行分子对接, 对接结果在 Pymol 上进行可视化。最后, 利用对接结合能来评估化合物小分子与疾病靶蛋白结合的能力。

2.6 动物建模和分组

HCT-116 细胞($1 \times 10^7/\text{mL}$, 约 0.2 mL)接种于 BABL/c 裸鼠右腋下, 建立荷瘤小鼠模型。当肿瘤直径约为 0.5 cm, 将小鼠随机分为模型组、5-氟尿嘧啶(20 mg/kg)组、木犀草素(40 mg/kg)组, 每日 ig 1 次, 连续 14 d^[6-8]。

2.7 裸鼠肿瘤体积记录

自荷瘤小鼠模型建立以来, 每 3 天称质量 1 次, 共 28 d; 自小鼠 ig 给药开始, 每 3 天测量并记录肿瘤体积, 共 14 d。

2.8 肿瘤标本的收集和治疗

小鼠最后 1 次给药 24 h 后, 采用断头法处死。立即采集肿瘤标本, 观察肿瘤形态, 测量肿瘤直径并计算肿瘤体积。然后将肿瘤组织切割并固定在 4%多聚甲醛中, 剩余的标本在 -80°C 冷冻备用。

2.9 血清和肿瘤组织中炎症因子及氧化应激因子水平的测定

血清和肿瘤组织中炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的水平及氧化应激因子 SOD 和 MDA 水平测定采用试剂盒进行测定。

2.10 肿瘤组织的组织学检查

将固定于 4%多聚甲醛的肿瘤组织包埋在石蜡中, 并制备成厚度为 4 μm 的切片, 按照常规的苏木精-伊红(HE)染色程序进行操作, 并在光学显微镜下进行观察。

2.11 免疫组织化学检测

取 2.10 项下的组织切片, 并按照免疫组化试剂盒说明书进行操作, 采用 Image-Pro Plus 6.0 分析结果。

2.12 蛋白质印迹检测

在 -80°C 冷冻的肿瘤组织中加入蛋白质裂解液, 用超声波粉碎机粉碎 1 min, 然后在冰上破碎 30 min, 在 4°C 以 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液作为总蛋白。蛋白质浓度用 BCA 法测定, 每个加样孔加入 50 μg 样品, 用 SDS-PAGE 分离蛋白质, 用 70 V 电压进行电泳, 然后转移到 PVDF 膜。在 37°C 下, 用封闭液封闭 2 h, 在 4°C 下, 一抗体孵育过夜, 在 37°C 下, 二抗体孵育 2 h, TBST 冲洗, ECL 试剂显影, Bio-Rad 系统显影成像。

2.13 统计学分析

实验数据用 SPSS 21.0 进行统计分析, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析进行检验。

3 结果

3.1 木犀草素治疗结肠癌的靶点网络构建

本研究筛选木犀草素靶点 202 个, 结肠癌靶点 22 066 个, 取交集后得到木犀草素直接作用于结肠癌的靶点共计 159 个, 并构建“木犀草素-疾病-靶点”网络图, 见图 1。

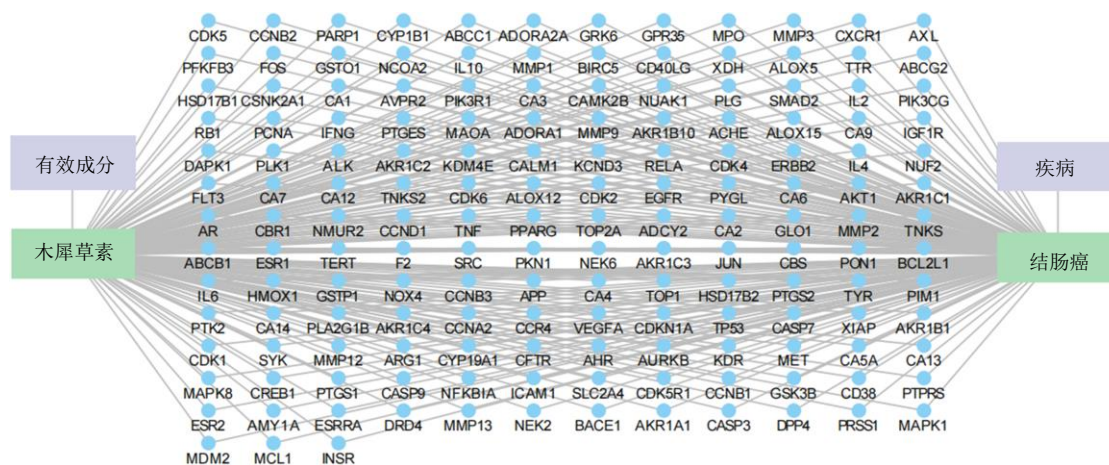


图 1 木犀草素治疗结肠癌的靶点网络

Fig. 1 Target network of luteolin in treatment of colon cancer

3.2 靶点 PPI 网络

如图 2 所示, 图中节点越大、颜色越深, 则表明度(degree)值越大, 最显著的核心靶点分别为 p65 蛋白、TLR2、TNF- α 、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、IL-6、TLR4、IL-1 β 、雌激素受体(ESR1)、表皮生长因子受体(EGFR)。

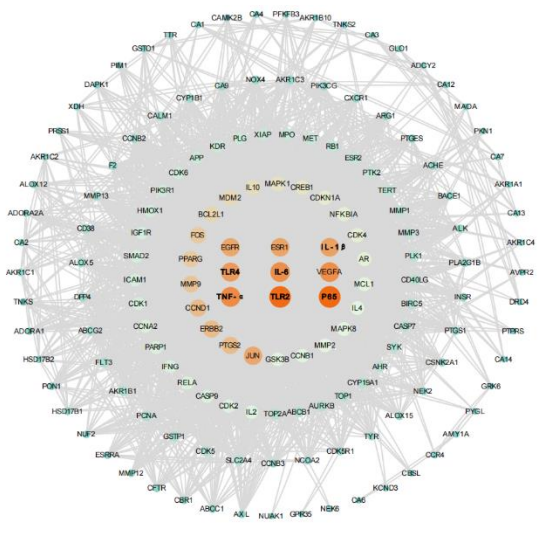


图 2 木犀草素治疗结肠癌的靶点 PPI 网络

Fig. 2 Target PPI network of luteolin in treatment of colon cancer

3.3 KEGG 通路分析及分子对接结果

如图 3 所示, 排名前 3 位的通路为核因子- κ B (NF- κ B) 信号通路、TNF 炎症通路及 TLR 信号通路, 为下一步的实验验证提供了科学的理论依据。一般认为, 结合能小于-5.0 kcal/mol (1 cal=4.2 J) 提示配体与受体有较好的结合活性, 小于-7.0 kcal/mol 有强烈的结合活性。本研究分子对接结果显示, 木犀草素与关键靶蛋白 TLR(-9.1 kcal/mol)、MyD88(-8.6 kcal/mol)、p65 蛋白(-5.3 kcal/mol) 的结合能较低, 分子对蛋白质之间至少形成 2 个氢键, 对接结果较为稳定, 见图 4。

3.4 木犀草素对小鼠肿瘤体积、质量变化的影响

由图 5 可见, 5-氟尿嘧啶组与木犀草素组小鼠的肿瘤体积外观上明显小于模型组小鼠。将荷瘤小鼠处死并分离肿瘤, 测量肿瘤体积及质量, 发现木犀草素与 5-氟尿嘧啶组小鼠的肿瘤体积及质量明显小于模型组 ($P<0.05$), 见表 1。

3.5 血清中炎症因子水平比较

如表 2 所示, 与模型组相比, 5-氟尿嘧啶组与木犀草素组降低了荷瘤裸鼠血清及肿瘤组织中的

炎症因子水平 ($P<0.05$)。

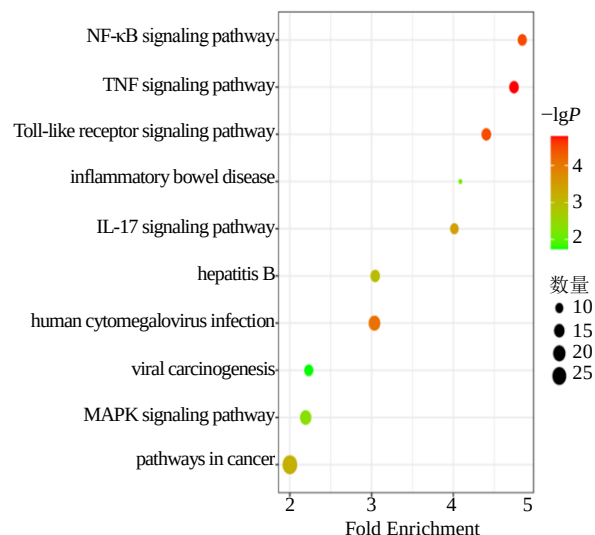


图 3 KEGG 通路富集分析

Fig. 3 Enrichment analysis of KEGG pathway

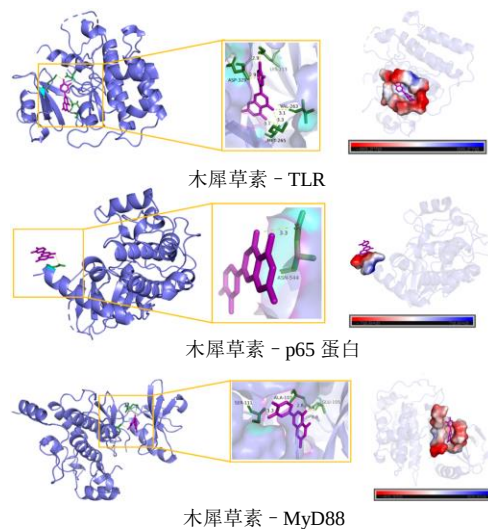


图 4 核心靶点的分子对接结果

Fig. 4 Molecular docking results of core targets

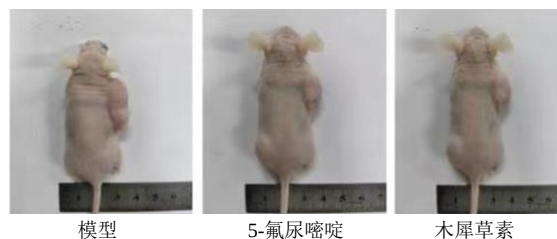


图 5 小鼠肿瘤体积外观

Fig. 5 Volume appearance of mouse tumors

3.6 血清与肿瘤 SOD 与 MDA 水平比较

如表 3 所示, 与模型组比较, 5-氟尿嘧啶组与木犀草素组能显著升高血清与肿瘤组织 SOD 水平,

表 1 荷瘤小鼠的肿瘤体积及质量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Tumor volume and mass of tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肿瘤体积/mm ³	肿瘤质量/mg
模型	—	1 250.1 ± 84.5	506.14 ± 6.9
5-氟尿嘧啶	20	605.4 ± 20.2 [#]	211.4 ± 5.5 [#]
木犀草素	40	701.6 ± 34.4 [#]	252.2 ± 2.8 [#]

与模型组比较: [#] $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs model group

表 2 各组小鼠血清和肿瘤组织中的细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Comparison of cytokine levels in serum and tumor tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血清			肿瘤组织		
		IL-6/(pg·mL ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)
模型	—	80.2 ± 7.3	49.2 ± 3.3	69.9 ± 2.4	41.9 ± 4.6	20.3 ± 2.4	31.1 ± 4.0
5-氟尿嘧啶	20	23.3 ± 1.4 [#]	22.1 ± 2.8 [#]	23.1 ± 2.5 [#]	24.3 ± 4.1 [#]	11.9 ± 1.4 [#]	24.8 ± 3.5 [#]
木犀草素	40	40.1 ± 4.1 [#]	27.6 ± 3.2 [#]	28.2 ± 3.8 [#]	30.6 ± 4.6 [#]	14.5 ± 1.4 [#]	19.1 ± 1.9 [#]

与模型组比较: [#] $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs model group

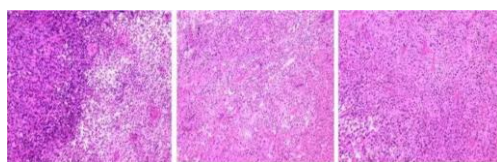
表 3 各组小鼠血清与肿瘤组织中 SOD 和 MDA 的水平 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 SOD and MDA levels in serum and tumor tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血清		组织	
		SOD/(U·mL ⁻¹)	MDA/(U·mL ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(U·mg ⁻¹)
模型	—	30.5 ± 2.8	30.1 ± 3.3	23.1 ± 2.1	39.8 ± 1.8
5-氟尿嘧啶	20	60.6 ± 3.3 [#]	16.7 ± 2.4 [#]	38.7 ± 3.6 [#]	24.6 ± 2.2 [#]
木犀草素	40	50.5 ± 4.6 [#]	18.7 ± 1.8 [#]	43.7 ± 1.7 [#]	28.3 ± 2.9 [#]

与模型组比较: [#] $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs model group



模型 5-氟尿嘧啶 木犀草素

图 6 HE 染色结果 (×200)

Fig. 6 HE staining results (×200)

3.8 p-NF-κB p65 与 p65 的免疫组化检测

免疫组化结果显示, 与模型组比较, 5-氟尿嘧啶组与木犀草素组小鼠肿瘤组织中 p-NF-κB、p65 表达水平明显降低, 见图 7。

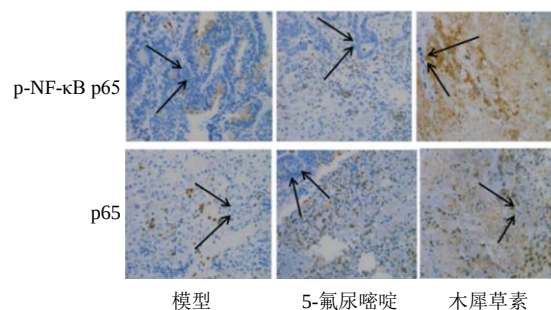
3.9 蛋白印迹法检测肿瘤 TLR/NF-κB 与 p65 蛋白表达

与模型组相比, 5-氟尿嘧啶组与木犀草素组小鼠肿瘤组织中 TLR2、TLR4、MyD88、p-NF-κB p65 和 p65 的表达水平显著降低, 见图 8。

降低血清与肿瘤组织中的 MDA 水平 ($P < 0.05$)。

3.7 HE 染色结果

模型组肿瘤细胞丰富, 排列紊乱, 大小不等, 细胞呈多角形, 细胞核明显异型, 病理性核分裂相较多, 肿瘤细胞体积增大, 核浆比增大, 染色深, 嗜碱性增加, 核仁增多、增大且不规则。5-氟尿嘧啶组与木犀草素组小鼠的肿瘤组织中的肿瘤细胞呈梭形和圆形, 细胞收缩, 有丝分裂相明显减少, 细胞体积较小, 核仁染色较浅, 相对规则, 见图 6。



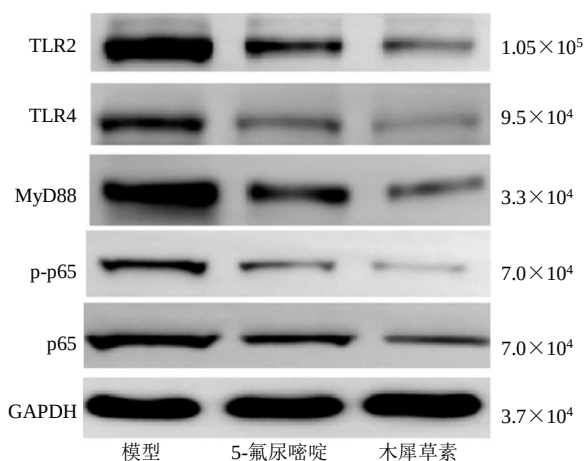
模型 5-氟尿嘧啶 木犀草素

图 7 免疫组化结果 (×100)

Fig. 7 Immunohistochemical results (×100)

4 讨论

结肠癌是胃肠道常见的恶性肿瘤, 近年来, 其发病率和死亡率逐年上升。结肠癌的发生、发展与炎症和氧化应激密切相关, 也是抗结肠癌治疗的常见途径^[9]。木犀草素作为中药活性单体成分, 具有一定的抗炎及抗氧化应激作用, 因此其抗肿瘤的可能性也逐渐成为研究热点^[10]。

图 8 各组 TLR/NF- κ B 与 p65 蛋白水平比较Fig. 8 Comparison of TLR/NF- κ B and p65 protein levels in each group

本研究结果显示,木犀草素组小鼠的肿瘤体积及质量明显小于模型组 ($P < 0.05$),表明木犀草素具有显著的抗肿瘤效果;网络药理学结果提示,木犀草素可能通过作用于 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 炎症因子调节结肠癌的炎症状态,从而起到一定的治疗作用。而 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平与肿瘤的恶性程度呈正相关^[11-12]。实验验证结果显示,木犀草素能够显著降低结肠癌小鼠的机体炎症因子 (TNF- α 、IL-6、IL-1 β) 水平 ($P < 0.05$),与网络药理学结果相互佐证,表明抑制炎症水平也可能是木犀草素发挥抗结肠癌作用的一种重要途径。

SOD 是体内氧化损伤的重要指标,MDA 也能够真实反映组织过氧化损伤程度^[13-15]。本研究结果显示,木犀草素能够升高荷瘤小鼠机体的 SOD 水平,同时降低 MDA 水平 ($P < 0.05$);结果表明木犀草素具有一定的抗氧化作用,能够调节机体的损伤状态,这也是其抗结肠癌的重要途径之一。

HE 染色结果显示,在模型组的肿瘤组织中,细胞病理性核分裂相较于明显,肿瘤细胞排列松散,细胞核浆比例失调,细胞浆染色改变。而木犀草素组的组织细胞则呈现细胞有丝分裂相减少,细胞体积较小,核仁染色较深,相对规则。结果表明,木犀草素能够有效抑制组织中的肿瘤细胞无限增殖,抑制细胞快速生长,从而起到了抗肿瘤的作用。

网络药理学及分子对接结果提示,木犀草素可能作用于 TLR、MyD88 及 P65 靶点,且与靶蛋白有稳定的结合态,可能是该单体发挥作用的前提条件。而 TLR/MyD88/NF- κ B 信号通路是机体炎症体

系中的重要途径,在肿瘤的发生、发展中也扮演着重要角色^[16]。Toll 样受体家族中的 TLR2、TLR4 高表达于巨噬细胞等细胞表面,能够促进炎症因子 IL-1、IL-8、TNF- α 的分泌导致正常组织的免疫病理损伤,对肿瘤发生、发展具有显著的作用^[17-18]。TLR 能激活 MyD88 依赖性途径,从而活化 NF- κ B,最终导致炎症介质和细胞因子的释放^[19]。而抑制 MyD88 可使结肠相关肿瘤产生抗性,表现为肿瘤数量和尺寸的减少;同时,阻断 NF- κ B 的活化则可抑制肿瘤细胞的增殖并诱导其凋亡^[20-21]。本研究免疫组化结果显示,木犀草素组的 p-NF- κ B、p65 表达水平明显降低,表明木犀草素在肿瘤组织中有效缓解了炎症反应,抑制了肿瘤发展的重要途径。结果显示,木犀草素抑制了肿瘤组织内 TLR2、TLR4、MyD88、p-NF- κ Bp65 和 p65 的表达,这些蛋白的表达在肿瘤的发生及发展过程中扮演着重要角色,是木犀草素发挥抗结肠癌肿瘤的关键途径之一。

本研究前期基于网络药理学及分子对接技术,初步锁定了木犀草素治疗结肠癌的可能靶点及关键通路,并通过进一步的实验验证证实了预测靶点及通路的科学性,为今后中药治疗复杂疾病的相关靶点药物开发及药理学研究提供了新的借鉴思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘志刚,宛晶晶. 中药治疗在肿瘤化疗后胃肠道反应中的应用 [J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2019, 3(18): 4-6.
- [2] 牛明,张斯琴,张博,等.《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [3] 王琪,李坤伟,周长征. 木犀草素的药理作用及制剂研究进展 [J]. 北京联合大学学报, 2022, 36(1): 59-63.
- [4] 赵喜,李虎,范晓博,等. 木犀草素通过调控 ATAD2 蛋白表达抑制结肠癌生长作用的研究 [J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2018, 39(4): 21-25.
- [5] 孟欣,仲维清,张欣荣. 木犀草素抑制结肠癌 HT-29 细胞增殖、迁移及上皮间质转化的实验研究 [J]. 海南医学院学报, 2017, 23(21): 2903-2905.
- [6] 孙力超,陈旭,姚尧,等. 木犀草素对脓毒症小鼠急性肺损伤的保护作用 [J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 28(6): 717-723.
- [7] Sabino F D, Campos C F, Caetano C E, et al. Effects of TachoSil and 5-fluorouracil on colonic anastomotic healing [J]. J Surg Res, 2014;192(2):375-382.
- [8] 刘涛. 三素中药单体复方对慢性咽炎的治疗作用 [D]. 唐山: 华北理工大学, 2015.

- [9] 张小路, 杜梅红, 彭银杰, 等. 过表达 miR-302 诱导结肠癌细胞促炎水平升高、线粒体氧化应激并抑制裸鼠成瘤的研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(7): 1070-1075.
- [10] 王伟, 何平, 江小明. 木犀草素及其黄酮苷的抗炎、抗氧化作用 [J]. 食品科学, 2020, 41(17): 208-215.
- [11] 张鹏飞, 张玉军, 朱振龙, 等. 血清 IL-6 和 TNF- α 水平与结肠癌病程的相关性 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(11): 2716-2717.
- [12] 莫波, 雍鑫, 乔丽娟, 等. 白细胞介素-1 β 对结肠癌干细胞迁移及诱导上皮-间质转化的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(21): 2901-2904.
- [13] 阎鑫宇, 张绍林, 陈海燕, 等. 能量代谢与氧化应激在肿瘤中的作用及其相互关系 [J]. 中南药学, 2022, 20(6): 1373-1378.
- [14] 董亮, 何永志, 王远亮, 等. 超氧化物歧化酶(SOD)的应用研究进展 [J]. 中国农业科技导报, 2013, 15(5): 53-58.
- [15] 宋丹, 杨娟, 倪洪岗, 等. 补阳还五汤加减联合 α -硫辛酸治疗糖尿病周围神经病变的疗效及对 SOD、MDA、T-AOC 等氧化应激指标的影响 [J]. 贵州医药, 2018, 42(7): 859-860.
- [16] 梅寒颖, 刘炬, 汤曾耀. 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨白芍总苷抑制干燥综合征模型小鼠炎症的作用机制 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(9): 1293-1299.
- [17] 张香港, 何谷良, 赵澄, 等. 从 TLR2/TLR4 介导的炎症因子表达水平探讨麻杏石甘汤抗流感病毒的免疫机理 [J]. 中医药导报, 2021, 27(10): 5-9.
- [18] 杨庆利, 冷静. TLR2 和 TLR4 信号在肿瘤发生和发展中的作用及机制的研究进展 [J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(3): 382-386.
- [19] 单佳铃, 程虹毓, 文乐, 等. TLR/MyD88/NF- κ B 信号通路参与不同疾病作用机制研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(4): 451-455.
- [20] Yuan Q, Gu J, Zhang J, et al. MyD88 in myofibroblasts enhances colitis-associated tumorigenesis via promoting macrophage M2 polarization [J]. *Cell Rep*, 2021, 34(5): 108724.
- [21] 李娜, 邓茜, 蒋建军. NF- κ B 信号通路在恶性肿瘤化疗耐药中的作用 [J]. 实用肿瘤学杂志, 2021, 35(6): 580-584.

[责任编辑 高源]