

基于网络药理学与 GEO 差异基因芯片数据分析小白菊内酯治疗宫颈癌的分子机制

孙杨¹, 谷光宇², 贾正虎³, 孟洁⁴, 高森^{5*}

1. 天津医科大学中新生态城医院 药剂科, 天津 300467

2. 天津医科大学第二医院 全科医学科, 天津 300211

3. 暨南大学 生物医学转化研究院, 广东 广州 510632

4. 天津市宁河区医院 妇科, 天津 301500

5. 天津医科大学总医院 药剂科, 天津 300052

摘要: **目的** 利用网络药理学结合 GEO 基因芯片分析的方法以及细胞实验研究小白菊内酯治疗宫颈癌的分子机制。**方法** 首先利用 GEO 数据库获取宫颈癌芯片数据, 再通过 R 软件获得其差异基因, 同时绘制火山图。利用 Swiss Target Prediction、SuperPred 和 HERB 数据库收集小白菊内酯的作用靶点。通过 GEO 差异基因、Malacards、PharmGkb、CTD、DrugBank 和 DisGeNET 数据库收集宫颈癌的疾病靶基因, 利用 Cytoscape 3.7.2 软件制作药物-活性成分-靶点-疾病网络图, 通过 String 数据库和 Cytoscape 3.7.2 软件对交集基因进行蛋白相互作用 (PPI) 网络富集分析。利用 R 语言的 clusterfiler 程序包对小白菊内酯治疗宫颈癌的潜在作用靶标进行基因本体 (GO) 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。最后, 通过人宫颈癌 HeLa 细胞模型验证小白菊内酯的作用机制。**结果** 获取 88 个小白菊内酯靶基因, 8 167 个宫颈癌的疾病靶点, 26 个差异基因, 3 个在宫颈癌中表达上调, 23 个在宫颈癌中表达下调。PPI 网络以及拓扑分析结果显示, Toll 样受体 4 (TLR4)、前列腺素内过氧化物酶 2 (PTGS2)、人细胞色素 p450 家族成员 2C9 (CYP2C9)、细胞色素 P450 3A4 酶 (CYP3A4)、组蛋白脱乙酰基酶 2 (HDAC2)、溴结构域包含蛋白 2 (BRD2) 和溴结构域包含蛋白 4 (BRD4) 是小白菊内酯治疗宫颈癌的 7 个核心基因。GO 富集分析得出小白菊内酯影响的生物学过程 (BP) 有 452 个, 包括对外源性刺激的反应、雌激素代谢过程等, 作用的细胞组合 (CC) 有 43 个, 包括组蛋白脱乙酰酶复合物、组蛋白甲基转移酶复合物等, 作用的分子功能 (MF) 有 41 个; KEGG 通路富集分析结果显示小白菊内酯治疗宫颈癌可能涉及药物代谢-细胞色素 P450、细胞色素 P450 对异种物质的代谢及 Toll 样受体信号通路等信号通路。MTT 实验证明, 小白菊内酯以剂量相关的方式抑制 HeLa 细胞的增殖, IC₅₀ 值为 6 μmol/L。**结论** 小白菊内酯能够明显抑制 HeLa 细胞增殖, 作用机制可能涉及多个靶点和多条通路。

关键词: 小白菊内酯; 宫颈癌; GEO 差异基因; 网络药理学; 分子对接; Toll 样受体 4; 前列腺素内过氧化物酶 2

中图分类号: R979.1; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)06-1313-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.06.004

Mechanism of parthenolide in treatment of cervical cancer based on network pharmacology and GEO data analysis

SUN Yang¹, GU Guang-yu², JIA Zheng-hu³, MENG Jie⁴, GAO Sen⁵

1. Department of Pharmacy, Sino-Singapore Eco-city Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300467, China

2. Department of General Practice, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

3. The Biomedical Translational Research Institute, Faculty of Medical Science, Jinan University, Guangzhou 510632, China

4. Department of Gynecology, Tianjin Ninghe District Hospital, Tianjin 301500, China

5. Department of Pharmacy, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Abstract: Objective To study the molecular mechanism of parthenolide in treatment of cervical cancer based on network pharmacology combined with GEO gene chip analysis and cell experiment. **Methods** GEO database was used to obtain cervical

收稿日期: 2023-03-19

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (8207091525, 81872236)

作者简介: 孙杨, 男, 主管药师, 本科, 研究方向为医院药学和药物评价。E-mail: 337325219@qq.com

*通信作者: 高森, 男, 主任药师, 硕士, 研究方向为中西药物质量控制、医院药学和药物评价。E-mail: yjkgaosen@163.com

cancer chip data, and then R software was used to obtain its differential genes, and the volcano map was drawn at the same time. Swiss Target Prediction, SuperPred, and HERB databases were used to collect the action targets of parthenolide. The target genes of cervical cancer were collected through GEO differential genes, Malacards, PharmGkb, CTD, DrugBank, and DisGeNET databases, and the drug - active ingredient - target - disease network map was made using Cytoscape 3.7.2 software. The protein interaction (PPI) network enrichment analysis of intersection genes was performed using the String database and Cytoscape3.7.2 software. The gene ontology (GO) enrichment analysis and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) signaling pathway enrichment analysis of the potential targets of parthenolide in treatment of cervical cancer were conducted using the clusterfiler package in R language. The mechanism of parthenolide was verified by HeLa cell model of human cervical cancer. **Results** A total of 88 parthenolide target genes, 8 167 disease targets of cervical cancer, and 26 differentially expressed genes with 3 up-regulated and 23 down-regulated in cervical cancer were chosen. PPI network and topology analysis results show that TLR4, PTGS2, CYP2C9, CYP3A4, HDAC2, BRD2, and BRD4 are the seven core genes of parthenolide in treatment of cervical cancer. GO enrichment analysis showed that there were 452 biological processes (BP) affected by parthenolide, including response to exogenous stimuli and estrogen metabolism, 43 cell combinations (CC) affected by parthenolide, including histone deacetylase complex and histone methyltransferase complex, and 41 molecular functions (MF) affected by parthenolide. The results of KEGG pathway enrichment analysis showed that the treatment of cervical cancer by parthenolide may involve drug metabolism, cytochrome P450, cytochrome P450 metabolism of heterogeneous substances and toll-like receptor signaling pathway. MTT assay demonstrated that parthenolide inhibited HeLa cell proliferation in a dose-dependent manner with IC_{50} of 6 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Parthenolide can significantly inhibit the proliferation of Hela cells, and the mechanism of action may be that parthenolide can treat cervical cancer through multiple targets and multiple pathways.

Key words: parthenolide; cervical cancer, GEO differential gene; network pharmacology; molecular docking; TLR4; PTGS2

在发病率和死亡率结构中, 宫颈癌是世界各国妇女中最常见的癌症之一。根据国际癌症研究机构的数据报道, 2018 年宫颈癌患者人数为 57 万, 比过去 10 年增加 7.8%, 死亡人数达 31.1 万人^[1]。近年来, 由于宫颈癌筛查项目的开展, 使宫颈癌及癌前病变得以早期发现及治疗, 但是宫颈癌的发病率和死亡率在全球范围内仍然稳步增长^[2]。目前西医常用的治疗方法有手术治疗、化疗和放射治疗^[3]。但是, 放化疗耐受已成为宫颈癌治疗失败、癌症转移和复发的主要原因之一^[4]。另外, 由于目前临床上用于治疗化疗药物的细胞毒性作用, 会对患者的身体造成严重损害, 许多研究人员已经开始关注使用不良反应少的中药开发新型抗肿瘤药物, 以提高患者生存率^[5-6]。

小白菊内酯属于萜类内酯, 是墨西哥和印度药用植物的活性成分, 主要用于治疗偏头痛、炎症和各种肿瘤^[7-8]。它含有 α -亚甲基- γ -内酯环和环氧化物, 能够使其与生物靶点快速相互作用, 诱导细胞氧化应激, 发挥其生物作用^[9]。另外, 由于它的低毒性, 已经被用于癌症临床试验^[10]。最近, 在包括乳腺癌、肺癌、前列腺癌、胆管癌和宫颈癌在内的各种癌症中观察到了小白菊内酯的抗肿瘤作用^[11]。具有高口服生物利用度的新型小白菊内酯类似物现已开发并正在进行临床前测试, 并且在 I 期/II 期临床试验中小白菊内酯已经充分显示了安全性^[12]。

近些年来其对宫颈癌的治疗作用也受到了广泛的报道, 但具体的作用机制仍未完全阐明。

网络药理学的兴起为探索药物治疗疾病的潜在机制提供了一种科学而廉价的方法, 也为这项研究提供了一个新的思路^[13]。因此, 本研究旨在将网络药理学和基础实验相结合, 通过网络药理学初步探索小白菊内酯治疗宫颈癌的潜在机制, 并通过细胞实验进行验证。为中医药临床应用和药物研发提供理论和实验支持。

1 材料与方法

1.1 宫颈癌 GEO 芯片的火山图绘制

从 GEO 数据库获取 GSE7803 芯片与相关数据, 使用 R 语言, 设定 $P < 0.005$ 、 $|\log_2(\text{fold change})| > 1$, 制作火山图, 收集疾病的差异基因。

1.2 小白菊内酯靶点的筛选

从 Herb (<http://herb.ac.cn>)、SwissTarget Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 和 SuperPred (<https://prediction.charite.de/>) 数据库筛选小白菊内酯潜在作用靶点。

1.3 宫颈癌相关靶点收集

以“cervical cancer”为关键词, 检索 Malacards (<http://www.malacards.org/>)、CTD (<http://ctdbase.org/>)、DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>)、Pharm Gkb (<https://www.pharmgkb.org/>) 和 DrugBank (<https://go.drugbank.com/>) 疾病数据库以及 GEO 差

异基因, 合并。将得到的宫颈癌基因与小白菊内酯的靶基因录入, 利用 Venny 2.1 软件, 取两者交集, 得到小白菊内酯 - 宫颈癌共同靶点, 绘制 Venn 图。

1.4 药物 - 活性成分 - 靶点 - 疾病网络构建

将小白菊内酯 - 宫颈癌的共同靶点导入 Cytoscape 软件中构建药物 - 活性成分 - 靶点 - 疾病网络^[14]。

1.5 蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建以及核心靶点筛选

将小白菊内酯 - 宫颈癌的共同靶点输入到 String 数据库获取 PPI 网络图, 通过 Cytoscape 软件以对相互作用进行可视化。同时利用 CytoNCA 插件, 根据 degree 值筛选出 PPI 网络的核心靶点。

1.6 基因本体 (GO) 及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析

利用 R 语言的 clusterfiler 程序包对小白菊内酯与宫颈癌的共同靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 信号通路富集分析。以 $P < 0.05$, Q 值 < 0.05 为筛选条件, 分别列出 GO 分析中前 10 条的生物过程 (BP)、细胞成分 (CC) 和分子功能 (MF), 以及 KEGG 分析中所有信号通路, 将结果用 R 语言绘制气泡图。

1.7 分子对接验证

使用 ChemBioDraw Ultra 14.0 绘制化合物的结构, 然后使用 ChemBio3D Ultra 14.0 用于通过 MMFF94 力场进行优化, 保存了小分子的 3D 结构。靶蛋白的三维结构是从 RCSB 蛋白质数据库 (<http://www.rcsb.org>) 下载。靶蛋白和化合物使用 AutodockTools 1.5.6 转换为 PDBQT 格式。使用了 Autodock vina 1.1.2 用于分子对接研究。为了提高计算精度, 参数 exhaustiveness 设置为 16, 其他参数为默认值。结合能越小, 靶蛋白和小分子之间的相互作用就越稳定。

1.8 体外细胞实验验证

1.8.1 细胞来源、主要试剂及培养条件 宫颈癌 HeLa 细胞来源于中国医学科学院, 小白菊内酯和噻唑蓝 MTT 购自 Sigma 公司 (质量分数 $\geq 98\%$, 货号 P0667、M2128), DMEM 培养基、RPMI 1640 培养液、FBS 和胰蛋白酶 (Gibco 公司)。

1.8.2 细胞培养 HeLa 细胞在含 10% FBS 和 1% 青霉素/链霉素的 DMEM 培养基中培养, 培养条件为 37 °C、湿度 95%、5% CO₂。

1.8.3 MTT 分析 取对数期生长的宫颈癌 HeLa 细胞接种于 96 孔细胞板, 接种密度约 1×10^4 个/孔,

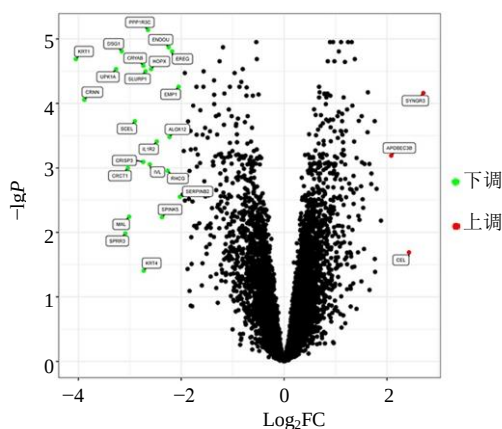
过夜培养, 细胞中分别加入不同浓度的小白菊内酯 (0、4、8、12、16、20 $\mu\text{mol/L}$) 孵育 24 h。以 0.02% 二甲基亚砜 (DMSO) 作为对照。移除培养基, 加入 200 μL 新鲜培养基和 20 μL 新鲜制备的 MTT (5 mg/mL PBS) 加入到每个孔中, 在黑暗中 37 °C 继续培养 4 h, 每组 3 个重复, 移除培养基, 加入 200 μL DMSO, 轻轻振荡 10 min 后用酶联免疫检测仪在 570 nm 处测定吸光度 (A) 值。

$$\text{细胞存活率} = 1 - A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

2 结果

2.1 宫颈癌 GEO 靶点筛选结果

利用 GEO 数据库, 获取 GSE7803 数据集, 采用 R 语言对 GSE7803 进行归一化与差异分析, 并绘制差异基因火山图, 见图 1。筛选出宫颈癌差异基因共 26 个, 其中 3 个差异基因在宫颈癌中表达上调; 23 个差异基因在宫颈癌中表达下调。



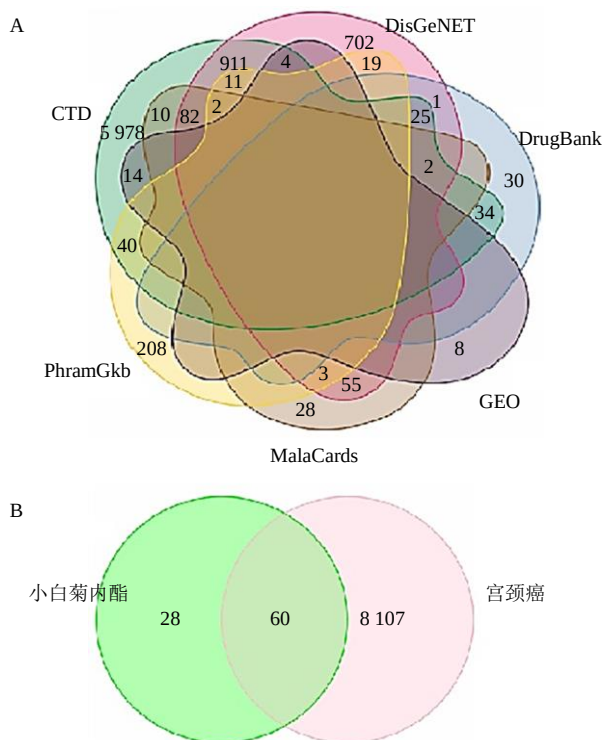


图 2 宫颈癌的靶基因 (A) 以及小白菊内酯 - 宫颈癌交集基因 (B) 韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of cervical cancer (A) and the overlapping targets of parthenolide and cervical cancer (B)

2.4 药物 - 活性成分 - 靶点 - 疾病网络构建分析

采用 Cytoscape 软件进行网络可视化。得到 60 个节点和 140 个边, 见图 3。四边形为小白菊内酯, 六边形为疾病宫颈癌, 圆形为小白菊内酯所对应的靶点, 三角形为活性成分小白菊。

2.5 PPI 网络构建以及核心靶点

将 2.3 项下得到的小白菊内酯与宫颈癌的交集靶点上传至 String 平台, 物种设定为 “Homo sapiens”, 其余参数默认, 删除 5 个游离蛋白, 获得蛋白相互作用数据信息; 然后导入 Cytoscape 3.9.1 软件中绘制 PPI 网络。PPI 网络中共有 50 个节点 (靶基因) 通过 73 条边发生相互作用 (图 4A)。使用 CytoNCA 通过拓扑分析对 PPI 网络的交叉点进行了中央网络评估, 并根据 $DC \geq 6$ 、 $BC \geq 1$ 、 $CC \geq 0.087$ 、 $EC \geq 0.008$ 、 $LAC \geq 1.34$ 和 $network \geq 2.286$ 选出了 7 个潜在的核心靶点 (图 4B), 分析结果表明 Toll 样受体 4 (TLR4)、前列腺素内过氧化物酶 2 (PTGS2)、人细胞色素 p450 家族成员 2C9 (CYP2C9)、细胞色素 P450 3A4 酶 (CYP3A4)、组

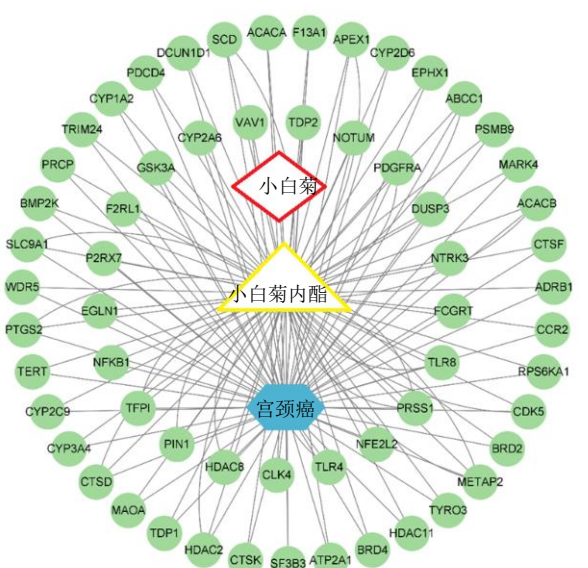


图 3 小白菊内酯治疗宫颈癌药物 - 活性成分 - 靶点 - 疾病靶点网络图

Fig. 3 Network diagram of drug - active ingredient - target - disease

蛋白脱乙酰基酶 2 (HDAC2)、溴结构域包含蛋白 2 (BRD2) 和溴结构域包含蛋白 4 (BRD4) 被认为是小白菊内酯治疗宫颈癌的核心靶基因。

2.6 GO 及 KEGG 通路富集分析

GO 富集分析结果显示, 小白菊内酯治疗宫颈癌的 BP 有 452 个, 排名靠前的过程有对外源性刺激的反应和雌激素代谢过程等; CC 有 43 个, 影响较大的包括组蛋白脱乙酰酶复合物、组蛋白甲基转移酶复合物等; MF 有 41 个, 影响较大的包括氧化还原酶活性、作用于成对供体、分子氧的掺入或还原、p53 结合等 (图 5)。KEGG 通路富集分析结果显示, 小白菊内酯治疗宫颈癌可能涉及药物代谢 - 细胞色素 P450、细胞色素 P450 对异种物质的代谢及 Toll 样受体信号通路等信号通路 (图 6)。

2.7 药物 - 核心靶点分子对接

7 个核心靶蛋白包括 BRD2 (PDB ID:2YDW)、BRD4 (PDB ID:2YEM)、CYP2C9 (PDB ID:6VLT)、CYP3A4 (PDB ID:4I3Q)、HDAC2 (PDB ID:3MAX)、PTGS2 (PDB ID:1CX2) 和 TLR4 (PDB ID: 3UL7), 分别与小白菊内酯对接。观察到小白菊内酯分别进入 7 种蛋白活性口袋, 见图 7。结果表明, 小白菊内酯和 7 个核心靶蛋白具有良好的对接活性, 结合能全部低于 -25.2 kJ/mol 。氢键和 $\pi-\pi$ 堆叠是相互作用的主要形式。其中, 小白菊内酯与 CYP2C9 和

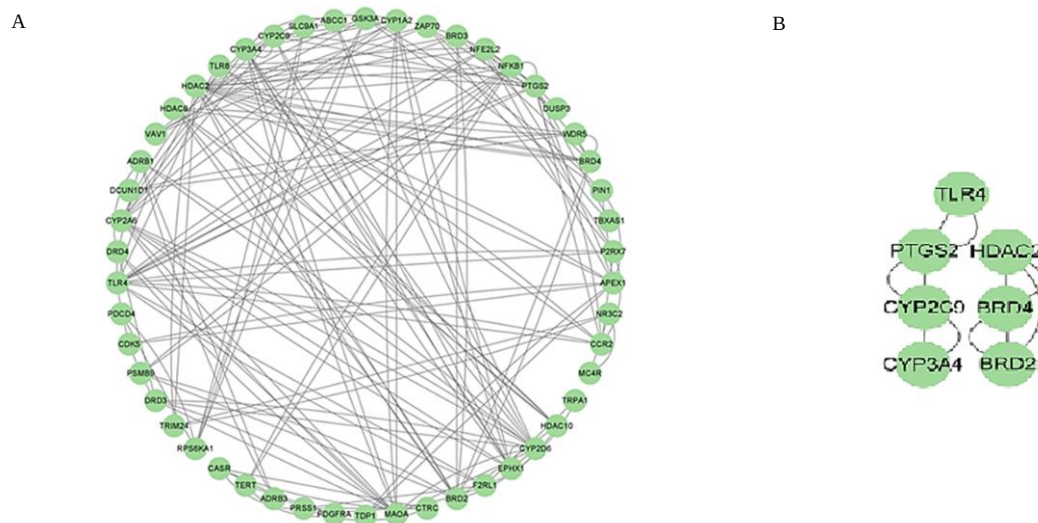


图 4 小白菊内酯治疗宫颈癌相关靶点的 PPI 网络图 (A) 和核心靶点图 (B)

Fig. 4 PPI relationship diagram of parthenolide in treatment of cervical cancer (A) and core target diagram (B)

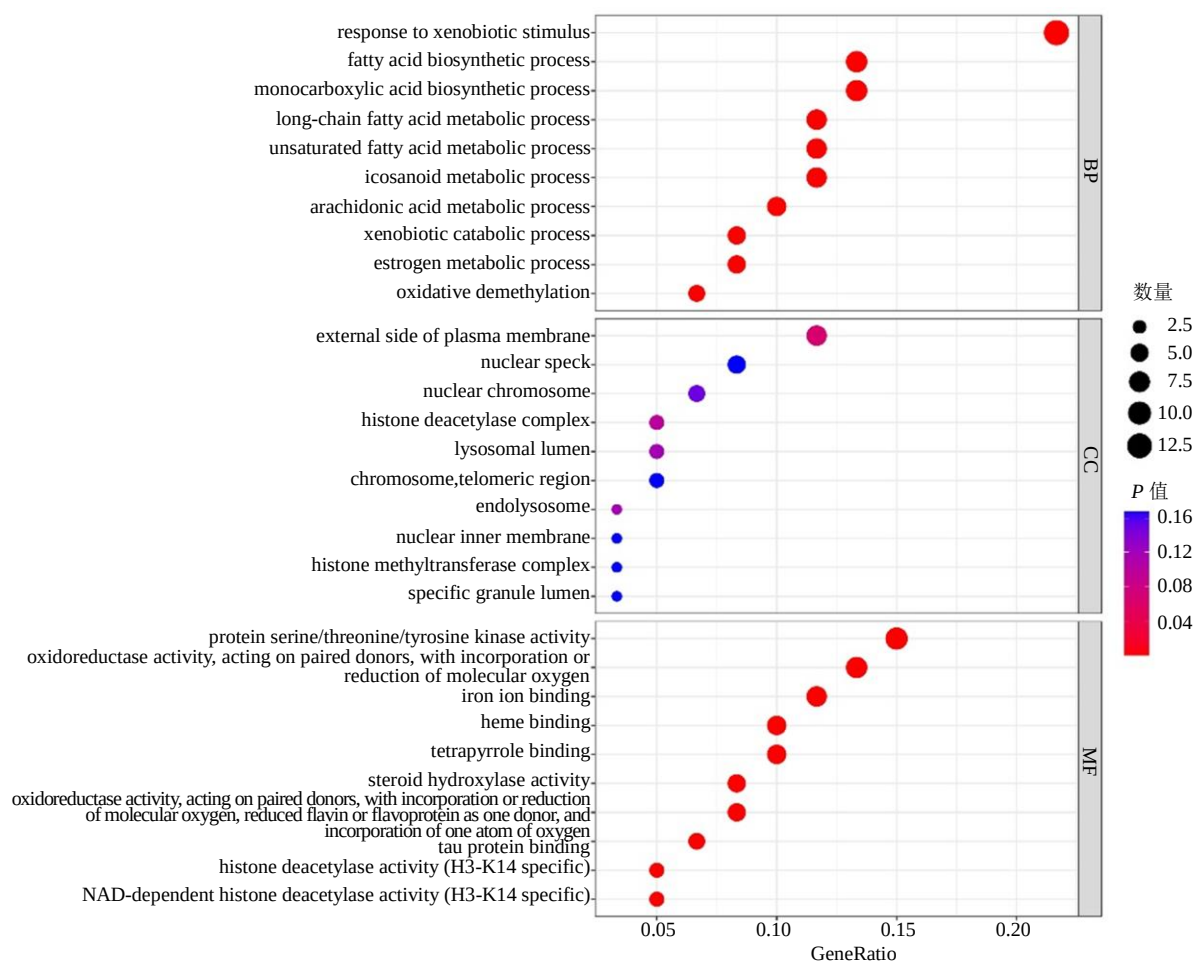


图 5 小白菊内酯治疗宫颈癌潜在靶点的生物功能分析

Fig. 5 Bio-functional analysis of the potential target for parthenolide in treatment of cervical cancer

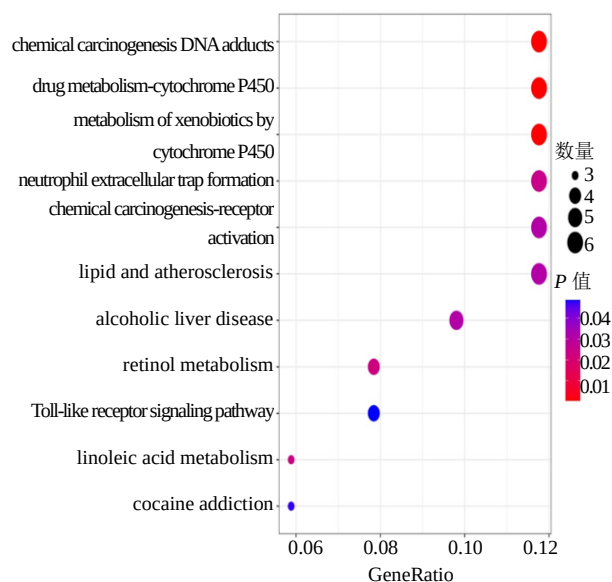


图 6 小白菊内酯治疗宫颈癌潜在靶点 KEGG 通路分析
Fig. 6 Analysis of the KEGG pathway of the potential target for parthenolide in treatment of cervical cancer

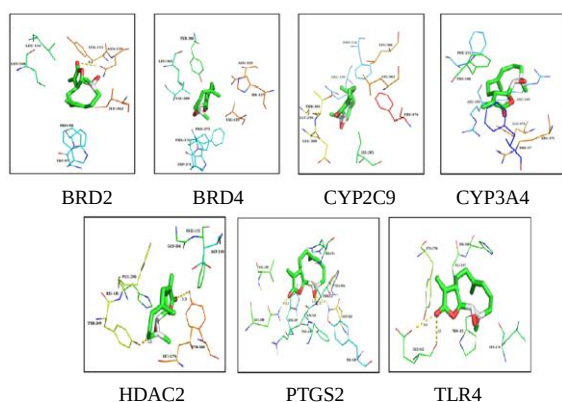


图 7 小白菊内酯与核心靶点对接图
Fig. 7 Docking diagram of parthenolide and core targets

CYP3A4 的结合能最低, 分别为-34.02、-33.6 kJ/mol (1 cal=4.4 J)。

2.8 MTT 法测定小白菊内酯对 HeLa 细胞毒性的影响

MTT 分析结果显示, 不同浓度的小白菊内酯对宫颈癌 HeLa 细胞均有抑制作用 ($P<0.05$), 并且随着小白菊内酯浓度的增加, 抑制作用逐渐增强, 呈现明显的剂量相关性 (图 8)。小白菊内酯的 IC_{50} 值为 $6 \mu\text{mol/L}$ 。

3 讨论

宫颈癌是影响女性仅次于乳腺癌的第二大常见恶性肿瘤^[15]。现代研究证实, 人乳头瘤病毒

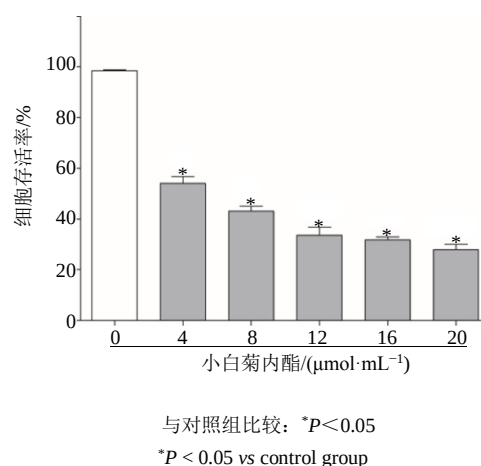


图 8 不同浓度小白菊内酯对宫颈癌 HeLa 细胞活性的作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 8 Effects of proliferation of HeLa cells on different concentrations of parthenolide ($\bar{x} \pm s, n=3$)

(HPV) 感染与宫颈癌症的发生、发展、治疗和预防密切相关。实施 HPV 疫苗、HPV 检测和宫颈细胞学检查显著降低了早期宫颈癌症的发病率。然而, 晚期癌症患者由于转移发生率高, 仍有不利的预后, 这仍是影响患者预后的主要因素之一^[16]。此外, 免疫治疗或辅助化疗方法在晚期宫颈癌症中的临床应用并不像预期的那样有效。因此, 迫切需要新的治疗方法。中医药已被应用于治疗癌症, 具有作用于多种癌症相关信号通路和分子靶点而无严重副作用的优势。

小白菊内酯是小白菊中一种倍半萜内酯化合物, 通过阻断 κB 抑制因子激酶 (IKK) 和抑制 p65 激活环中的半胱氨酸残基从而间接抑制核因子- κB (NF- κB)。由于其抗炎特性和低毒性, 小白菊内酯已被用于治疗偏头痛和类风湿关节炎。最近, 已观察到小白菊内酯的抗肿瘤作用包括乳腺癌、肺癌、前列腺癌、胆管癌和急性髓性白血病等。Jeyamohan 等^[17]报道小白菊通过抑制磷脂肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) 和蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路、线粒体膜去极化和活性氧 (ROS) 生成, 从而诱导 HeLa 细胞凋亡和自噬介导的生长抑制, 并且认为可能是一种潜在的治疗宫颈癌症的药物。Yang 等^[18]发现小白菊内酯可影响 caspase-9 和 caspase-3 的活化, 而 HeLa 细胞的凋亡是由细胞色素 c 的释放和 caspase-3 激活介导的。研究发现小白菊内酯确实可以治疗宫颈癌, 然而作用机制仍然未知。为了进一步探索小白

菊内酯治疗宫颈癌,为临床治疗提供更多证据,小白菊内酯治疗宫颈癌的靶点以及可能的信号通路通过网络药理学进行预测和分子对接进行阐释,最后通过体外实验进行验证。

在 PPI 网络中,TLR4、PTGS3、CYP2C9、CYP3A4、HDAC2、BRD2 和 BRD4 是小白菊内酯治疗宫颈癌的核心靶点,这表明小白菊内酯可能通过上述 7 个靶点治疗宫颈癌。细胞色素 P450 是细胞内癌症进展和癌症治疗最重要的酶之一。它们介导多种前致癌物的代谢激活,并参与抗癌药物的灭活和活化。表型分析揭示了 CYP 酶活性与多种发育形式的癌症风险之间的关系。细胞色素 P450 酶,特别是与 CYP1、CYP2 和 CYP3 家族相对应的酶,参与药物的代谢以及其他外源和内源性物质^[19]。Kaur-Knudsen 等^[20]报道 CYP2C9 环氧还原酶复合亚基 1 (VKORC1) 多态性与宫颈癌风险之间的关系。CYP3A4 基因多态性可影响丙泊酚联合瑞芬太尼治疗宫颈癌的麻醉效果^[21]。组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 可以动态调节人体内的蛋白质乙酰化。

作为 HCAC 家族的一员,HDAC2 被发现与肿瘤的发展密切相关,高水平的表达在多种肿瘤中起着重要作用^[22]。Hua 等^[23]描述组蛋白去乙酰化酶 2 表达下调对宫颈癌细胞增殖和细胞周期的影响。溴结构域和超末 (BET) 家族是一类能特异性识别乙酰化赖氨酸调控基因转录过程的蛋白,由 4 个保守的哺乳动物成员 (BRD2、BRD3、BRD4、BRDT) 组成,在多种疾病包括炎症、免疫以及癌症的发生发展中具有重要作用^[24]。BRD4 是 BET 家族的一员,能够与乙酰化的组蛋白或非组蛋白结合,其表达上调与多种肿瘤的恶性发展密切相关,抑制或降解 BRD4 能有效控制肿瘤的恶性进展和远端转移^[25]。Ni 等^[26]认为 BRD4 通过减弱 DNA 修复抑制宫颈癌对放射治疗敏感。PTGS2/环氧合酶 2 (COX2) 是二氯乙酸盐的一种新的耐药因子,抑制 COX2 可能为宫颈癌的治疗提供潜在的治疗靶点^[27]。Li 等^[28]发现 COX2 的抑制增强了二氯乙酸在宫颈癌细胞中的作用。Moura 等^[29]报道 TLR4 基因的多态性可以影响细胞内信号传导,从而改变免疫反应模式,导致宫颈癌风险增加。

在 KEGG 信号通路分析中,药物代谢 - 细胞色素 P450、细胞色素 P450 对异种物质的代谢及 Toll 样受体信号通路等信号通路起关键作用。提示小白菊内酯可能通过这些通路治疗宫颈癌。Toll 样受体

(TLRs) 可识别不同的病原体相关分子模式,并在先天性免疫应答中扮演着不可或缺的角色。它们是抵御病原体入侵的第一道防线,在炎症、免疫细胞调控、存活和增殖方面发挥着关键作用^[30]。DeCarlo 等^[31]描述 TLR3 和 TLR1 分别参与早期和晚期宫颈癌的发生,提示 TLRs 的基质上调可能在宫颈疾病进展中起作用。细胞色素 P450 (CYP) 酶催化许多代谢反应,这些反应对异种生物 (包括药物) 的生物活性 (治疗和/或毒性) 产生深远影响。文献中的大量实例表明,药物/化学品对生物体的最终影响,无论药物和/或毒理学的影响取决于 CYP 酶和转运蛋白的表达和活性的调节。当这些特征因疾病或环境因素而改变时,可能会发生重大变化 (如药物的治疗结果),如引起癌症^[32]。Alshammari 等^[33]发现 CYP1B1 多态性被认为通过增强会影响化疗反应的孕酮和雌激素受体信号传导。

综上所述,本研究借助网络药理学系统,初步揭示了小白菊内酯通过 7 个核心基因 *TLR4*、*PTGS2*、*CYP2C9*、*CYP3A4*、*HDAC2*、*BRD2*、*BRD4* 治疗宫颈癌。而且,小白菊内酯作用多条信号通路治疗宫颈癌,包括药物代谢 - 细胞色素 P450、细胞色素 P450 对异种物质的代谢及 Toll 样受体信号通路等。分子对接技术阐释了小白菊内酯与核心靶点有良好的作用关系。体外实验进一步验证小白菊内酯能够抑制 HeLa 细胞的增殖,且呈剂量相关性,IC₅₀ 为 6 μmol/L。综上所述,小白菊内酯通过调控多个基因靶点和多条信号通路,抑制宫颈癌细胞的增殖,发挥治疗宫颈癌的作用。本实验为小白菊内酯在宫颈癌临床应用提供了理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Marth C, Landoni F, Mahner S, et al. Cervical cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment, and follow-up [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(suppl_4): 72-83.
- [2] Volkova L V, Pashov A I, Omelchuk N N. Cervical carcinoma: Oncology and biomarkers [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(22): 12571.
- [3] Boss E A, Barentsz J O, Massuger L F A G, et al. The role of MR imaging in invasive cervical carcinoma [J]. *Eur Radiol*, 2000, 10(2): 256-270.
- [4] Serkies K, Jassem J. Chemotherapy in the primary treatment of cervical carcinoma [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2005, 54(3): 197-208.
- [5] Yang W S, Xin Y, Sun S, et al. The role of parthenolide in the inhibition of proliferation and regulation of apoptosis of the human cervical carcinoma HeLa cells [J]. *Int J Clin Exp*

- Med*, 2016, 9(10): 19231-19237.
- [6] 吴朗杰, 赵春燕, 战丽彬. 基于网络药理学和分子对接研究白花蛇舌草和半枝莲药对治疗宫颈癌的作用机制[J]. *中草药*, 2021, 52(4): 1049-1058.
 - [7] Knight D W. Feverfew: Chemistry and biological activity [J]. *Nat Prod Rep*, 1995, 12(3): 271-276.
 - [8] 孙英辉, 尚海花, 慈小燕, 等. 基于药物转运体的小白菊内酯衍生物 ACT001 的跨膜转运机制和耐药性研究[J]. *中草药*, 2022, 53(12): 3711-3719.
 - [9] Bork P M, Schmitz M L, Kuhnt M, *et al*. Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants and pure sesquiterpene lactones as potent inhibitors of transcription factor NF-kappaB [J]. *FEBS Lett*, 1997, 402(1): 85-90.
 - [10] Freund R R A, Gobrecht P, Fischer D, *et al*. Advances in chemistry and bioactivity of parthenolide [J]. *Nat Prod Rep*, 2020, 37(4): 541-565.
 - [11] Ghantous A, Sinjab A, Herceg Z, *et al*. Parthenolide: From plant shoots to cancer roots [J]. *Drug Discov Today*, 2013, 18(17-18): 894-905.
 - [12] Shanmugam R, Neelakantan S, Jayaprakasan V, *et al*. Water soluble analogue of parthenolide LC-1 influences apoptosis in bladder cancer cell lines by modulating pro-apoptotic and anti-apoptotic genes and promotes p21 activity [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(suppl_8): 1291-1301.
 - [13] 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.
 - [14] 何润之, 赵肖灵, 刘建敏, 等. 基于网络药理学和分子对接技术研究艾叶对黑色素瘤的作用机制 [J]. *南开大学学报: 自然科学版*, 2022, 55(2): 21-30.
 - [15] Karlidag T, Cobanoglu B, Keles E, *et al*. Expression of Bax, p53, and p27/kip in patients with papillary thyroid carcinoma with or without cervical nodal metastasis [J]. *Am J Otolaryngol*, 2007, 28(1): 31-36.
 - [16] Wong L P, Han L Y, Li H, *et al*. Current issues facing the introduction of human papillomavirus vaccine in China and future prospects [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2019, 15(7-8): 1533-1540.
 - [17] Jeyamohan S, Moorthy R K, Kannan M K, *et al*. Parthenolide induces apoptosis and autophagy through the suppression of PI3K/Akt signaling pathway in cervical cancer [J]. *Biotechnol Lett*, 2016, 38(8): 1251-1260.
 - [18] Yang W S, Xin Y, Sun S, *et al*. The role of parthenolide in the inhibition of proliferation and regulation of apoptosis of the human cervical carcinoma HeLa cells [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2016, 9(10): 19231-19237.
 - [19] Agundez J A. Cytochrome P450 gene polymorphism and cancer [J]. *Curr Drug Metab*, 2004, 5(3): 211-224.
 - [20] Kaur-Knudsen D, Nordestgaard B G, Bojesen S E. CYP2C9 genotype does not affect risk of tobacco-related cancer in the general population [J]. *Cancer Epidemiol*, 2010, 34(2): 178-183.
 - [21] 徐启祥, 程敏, 陈玉珍, 等. CYP3A4*1G 基因多态性对患者术后舒芬太尼用量和镇痛效果影响的 Meta 分析[J]. *临床麻醉学杂志*, 2022, 38(12): 1290-1296.
 - [22] Bieliauskas A V, Pflum M K. Isoform-selective histone deacetylase inhibitors [J]. *Chem Soc Rev*, 2008, 37(7): 1402-1413.
 - [23] Hua F F, Sun J, Guo F, *et al*. Effect of downregulated histone deacetylase 2 expression on cell proliferation and cell cycle in cervical cancer [J]. *J BUON*, 2014, 19(2): 497-501.
 - [24] Dawson M A, Kouzarides T. Cancer epigenetics: From mechanism to therapy [J]. *Cell*, 2012, 150(1): 12-27.
 - [25] Belkina A C, Denis G V. BET domain co-regulators in obesity, inflammation and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(7): 465-477.
 - [26] Ni M D, Li J J, Zhao H Y, *et al*. BRD4 inhibition sensitizes cervical cancer to radiotherapy by attenuating DNA repair [J]. *Oncogene*, 2021, 40(15): 2711-2724.
 - [27] Deshpande R, Mansara P, Kaul-Ghanekar R. Alpha-linolenic acid regulates Cox2/VEGF/MAP kinase pathway and decreases the expression of HPV oncoproteins E6/E7 through restoration of p53 and Rb expression in human cervical cancer cell lines [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(3): 3295-3305.
 - [28] Li B, Li X Z, Xiong H J, *et al*. Inhibition of COX2 enhances the chemosensitivity of dichloroacetate in cervical cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(31): 51748-51757.
 - [29] Moura E L D, Santos I F D, Freitas P P D, *et al*. Polymorphisms in Toll-like receptors genes changes the host's immune response and is associated with cervical cancer [J]. *Immunobiology*, 2022, 227(2): 152187.
 - [30] Wang J P, Lin D Y, Peng H, *et al*. Cancer-derived immunoglobulin G promotes LPS-induced proinflammatory cytokine production via binding to TLR4 in cervical cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(20): 9727-9743.
 - [31] DeCarlo C A, Rosa B, Jackson R, *et al*. Toll-Like receptor transcriptome in the HPV-positive cervical cancer microenvironment [J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 785825.
 - [32] Rendic S, Guengerich F P. Update Information on drug metabolism systems—2009, Part II: Summary of information on the effects of diseases and environmental factors on human cytochrome P450 (CYP) enzymes and transporters [J]. *Curr Drug Metab*, 2010, 11(1): 4-84.
 - [33] Alshammari F O F O, Al-saraireh Y M, Youssef A M M, *et al*. Cytochrome P450 1B1 overexpression in cervical cancers: Cross-sectional study [J]. *Interact J Med Res*, 2021, 10(4): e31150.

[责任编辑 高源]