

基于网络药理学和分子对接探讨西黄丸治疗宫颈癌的作用机制

邓鸿飞, 杨自力, 罗毅

南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210000

摘要: 目的 利用网络药理学和分子对接的方法研究西黄丸治疗宫颈癌的分子机制。方法 采用计算机检索 TCMSP、BATMAN-TCM 数据库, 并筛选西黄丸的有效活性成分及作用靶点。检索 OMIM、GeneCards 数据库, 获得宫颈癌的疾病靶点, 合并去重后, 与西黄丸获得的有效成分靶点取交集。运用 String 数据库构建蛋白质相互作用 (PPI) 网络图。利用 Cytoscape 3.9.1 软件进行可视化, 并采用 DAVID 数据库对交集基因进行 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。最后运用 AutoDock Vina、Pymol 软件进行分子对接验证。**结果** 筛选得到西黄丸 70 个主要活性成分, 包括表雄酮、槲皮素、雄甾酮等。与宫颈癌相关的靶点有 116 个, 核心靶点有肿瘤蛋白 P53 (TP53)、表皮生长因子受体 (EGFR)、蛋白激酶 B1 (Akt1)、白细胞介素 (IL) -6、原癌基因 (MYC)、转录因子 AP-1 (JUN)、半胱氨酸蛋白酶 3 (CASP3)、IL-1B、肿瘤坏死因子 (TNF)、雌激素受体 1 (ESR1)、B 淋巴细胞 2 (Bcl-2)、低氧诱导因子-1A (HIF-1A)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、V-Rel 网状内皮增生病毒癌基因同源物 A (RELA) 等。GO 和 KEGG 分析结果显示, 西黄丸治疗宫颈癌的重要通路有 IL-17、TNF、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt、p53、HIF-1 等信号通路。分子对接结果显示: 西黄丸的主要成分与核心靶点有良好的对接效果。**结论** 西黄丸主要通过调节 IL-17、TNF、PI3K/Akt、p53、HIF-1 等信号通路治疗宫颈癌。

关键词: 西黄丸; 宫颈癌; 网络药理学; 分子对接; 表雄酮; 槲皮素; 雄甾酮; 肿瘤蛋白 P53; 白细胞介素-17

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)02-0325-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.02.008

Mechanism of Xihuang Pills in treatment of cervical cancer based on network pharmacology and molecular docking technology

DENG Hongfei, YANG Zili, LUO Yi

Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Xihuang Pills in treatment of cervical cancer through pharmacology network and molecular docking methods. **Methods** To search the active ingredients and targets of Xihuang Pills by TCMSP and BATMAN-TCM databases. To obtain the disease targets of cervical cancer OMIM and GeneCards databases. After the combination and deduplication, it intersected with the effective ingredient target obtained by Xihuang Pills. The protein interaction (PPI) network map was constructed using String database. Cytoscape 3.9.1 software was used for visualization, and the intersection genes were analyzed using DAVID database for functional enrichment (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment. Finally, AutoDock Vina and Pymol software were used to verify the molecular docking. **Results** Seventy main active components of Xihuang Pills were screened, including 3beta-hydroxy-5alpha-androstan-17-one, quercetin, androsterone, etc. There are 116 targets associated with cervical cancer, the core targets are TP53, EGFR, Akt1, IL-6, MYC, JUN, CASP3, IL-1B, TNF, ESR1, Bcl-2, HIF-1A, MMP9, RELA, etc. GO and KEGG analysis results showed that the important pathways of Xihuang Pills in treatment of cervical cancer were IL-17, TNF, PI3K/Akt, p53, HIF-1, and other signaling pathways. **Conclusion** Xihuang Pills mainly treats cervical cancer by regulating IL17, TNF, PI3K/Akt, p53, HIF-1 signaling pathways.

Key words: Xihuang Pills; cervical cancer; network pharmacology; molecular docking; 3beta-hydroxy-5alpha-androstan-17-one; quercetin; androsterone; TP53; IL-17

收稿日期: 2023-09-29

基金项目: 南京中医药大学自然科学基金项目 (XZR2021029)

作者简介: 邓鸿飞, 硕士, 主要从事中西医结合研究工作。E-mail: 2765202244@qq.com

宫颈癌作为威胁女性健康的头号“杀手”，已成为威胁女性健康的重要因素，全世界每年约有 25 万女性因宫颈癌死亡^[1-2]。作为传统名方的西黄丸已广泛应用于临床，研究证明西黄丸辅助治疗宫颈癌可以有效减轻西医治疗的不良反应，提高患者的生活质量，提高疗效，延长生命^[3]。

西黄丸记载于《外科证治全生集》，方由牛黄、麝香、乳香、没药 4 味中药组成，具有清热活血、化痰消微、解毒散结等功效^[4]。根据现代药理学研究结果，西黄丸具备一系列的药理效应，这些效应包括抑制恶性肿瘤的增殖和传播、诱导癌细胞发生凋亡、阻止新血管生成及调节免疫微环境等^[3, 5-8]。因此，西黄丸常被用于治疗多种恶性肿瘤，如乳腺癌和胃癌等。但西黄丸辅助治疗宫颈癌的机制尚不明确。

本研究基于网络药理学及分子对接的方法^[9]来预测西黄丸防治宫颈癌的有效活性成分、作用靶点及参与调控的细胞信号转导等，阐述西黄丸抗宫颈癌的作用机制，以此为后面的科学研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 西黄丸有效成分及目标靶基因的筛选

在 TCMSP 数据库^[10] (<https://tcmsp-e.com/>) 中检索牛黄、乳香、没药对应数据库中的化合物，以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ ，类药性 (DL) ≥ 0.18 进行筛选，获得上述 3 味药的有效成分。同时，在 BATMAN-TCM 数据库^[11] (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>) 中，以分数阈值 (score cutoff) ≥ 30 和 $P \leq 0.05$ 为条件筛选麝香的有效成分及靶点。

1.2 西黄丸有效成分 - 靶点网络的构建

利用 UniProt (<https://www.uniprot.org/>) 和 BATMAN-TCM 数据库获得西黄丸的有效成分作用靶点基因名。通过 Excel 构建网络文件，导入 Cytoscape 3.9.1 软件构建活性成分 - 靶点网络。

1.3 宫颈癌疾病靶点的筛选

以“cervical cancer”为关键词在 GeneCards 人类基因数据库 (<https://auth.lifemaps.com/>) 和 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 中检索宫颈癌的相关基因，合并去重后得到疾病基因靶点。

1.4 西黄丸 - 宫颈癌共同靶点筛选及蛋白相互作用 (PPI) 网络的构建

将西黄丸 - 宫颈癌共同靶点导入 String 12.0 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)，物种选择“人类 (homo sapiens)”最低相互作用域值 ≥ 0.9 ，获得靶

点相互作用网络图，将该图导入 Cytoscape 3.9.1 软件构建 PPI 网络。并通过“network analyzer”插件网络结构进行拓扑分析，根据介数中心性 (BC)、紧密度 (CC)、节点连接度 (degree) 筛选得到核心靶点。

1.5 基因本体论 (GO) 功能富集分析与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析

将西黄丸 - 宫颈癌共同靶点以 Gene Symbol 的格式导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)，进行 GO 功能富集分析以及 KEGG 基因通路富集分析。通过微生信在线平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn>) 进行可视化处理，以解释西黄丸治疗宫颈癌的生物功能及相关信号通路过程。

1.6 “西黄丸 - 靶点 - 宫颈癌 - 通路”网络的构建

通过 KEGG 富集分析结果，选取与宫颈癌联系紧密的通路，通过 Cytoscape 3.9.1 软件构建“西黄丸 - 靶点 - 宫颈癌 - 通路”网络图。

1.7 分子对接验证

通过 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载核心靶点排名前 10 位蛋白质结构，利用 PyMol、Autodock-vina 软件处理大分子蛋白结构，后保存为“pdbqt”格式文件。通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 得到西黄丸核心有效成分小分子的 3D 结构，并通过 Autodock Tools 软件处理后保存为“pdbqt”格式文件。最后利用 Autodock Vina 1.5.6 软件将大分子和小分子进行对接，利用 PyMol 软件处理对接结果，建立对接相互作用图。

2 结果

2.1 西黄丸活性成分及其靶点

检索到西黄丸有效活性成分共 70 个，对应的靶点共 428 个，经筛选后，牛黄、麝香、乳香、没药有效成分分别为 5、25、6、34 个，靶点分别有 7、280、13、195 个，见表 1。

2.2 西黄丸活性成分 - 靶点网络图

采用 Cytoscape 3.9.1 软件构建西黄丸活性成分 - 靶点网络，共有 502 个节点，1 221 条边。degree 值显示活性成分中槲皮素 (quercetin, degree = 147)、表雄酮 (3beta-hydroxy-5alpha-androstan-17-one, degree = 64)、雄甾酮 (androsterone, degree = 64)、3 α -羟基-5 α -17-酮 (3alpha-hydroxy-5alpha-androstan-17-one, degree = 64)、5-顺-环十五烷-L-酮 (5-cis-cyclopentadecen-1-one, degree = 63) 等在西黄丸中具有主要作用，见图 1、表 2。

表 1 西黄丸活性成分

Table 1 Active components of Xihuang Pills

编号	有效成分	OB/%	DL	来源	代码
MOL008838	methyl(4 <i>R</i>)-4-[(3 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i> ,12 <i>S</i> ,13 <i>R</i> ,14 <i>S</i> ,17 <i>R</i>)-3,7,12-trihydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1 <i>H</i> -cyclopenta[<i>a</i>]phenanthren-17-yl]pentanoate	32.32	0.76	牛黄	NH1
MOL008839	methyl desoxycholate	34.63	0.73	牛黄	NH2
MOL008845	deoxycholic Acid	40.72	0.68	牛黄	NH3
MOL008846	ZINC01280365	46.38	0.49	牛黄	NH4
MOL000953	CLR	37.87	0.68	牛黄	NH5
MOL001001	quercetin-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucuronide	30.66	0.74	没药	MY1
MOL001002	ellagic acid	43.06	0.43	没药	MY2
MOL001004	pelargonidin	37.99	0.21	没药	MY3
MOL001006	poriferasta-7,22 <i>E</i> -dien-3beta-ol	42.98	0.76	没药	MY4
MOL001009	guggulsterol-VI	54.72	0.43	没药	MY5
MOL001013	mansumbinoic acid	48.10	0.32	没药	MY6
MOL001022	11 α -hydroxypregna-4,17(20)-trans-diene-3,16-dione	36.62	0.47	没药	MY7
MOL001026	myrrhanol C	39.96	0.58	没药	MY8
MOL001027	myrrhanone A	40.25	0.63	没药	MY9
MOL001028	(8 <i>R</i>)-3-oxo-8-hydroxy-polypoda-13 <i>E</i> ,17 <i>E</i> ,21-triene	44.83	0.59	没药	MY10
MOL001029	myrrhanones B	34.39	0.67	没药	MY11
MOL001031	epimansumbinol	61.81	0.40	没药	MY12
MOL001033	diayangambin	63.84	0.81	没药	MY13
MOL001040	(2 <i>R</i>)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	42.36	0.21	没药	MY14
MOL001045	(13 <i>E</i> ,17 <i>E</i> ,21 <i>E</i>)-8-hydroxypolypodo-13,17,21-trien-3-one	44.34	0.58	没药	MY15
MOL001046	(13 <i>E</i> ,17 <i>E</i> ,21 <i>E</i>)-polypodo-13,17,21-triene-3,18-diol	39.96	0.58	没药	MY16
MOL001049	16-hydroperoxymansumbin-13(17)-en-3 β -ol	41.05	0.49	没药	MY17
MOL001052	mansumbin-13(17)-en-3,16-dione	41.78	0.45	没药	MY18
MOL001061	(16 <i>S</i> ,20 <i>R</i>)-dihydroxydammar-24-en-3-one	37.34	0.78	没药	MY19
MOL001062	15 α -hydroxymansumbinone	37.51	0.44	没药	MY20
MOL001063	28-acetoxy-15 α -hydroxymansumbinone	41.85	0.67	没药	MY21
MOL001095	isofouquierone	40.95	0.78	没药	MY22
MOL001126	[(5 <i>a</i> ,8 <i>a</i> ,9 <i>R</i>)-8-oxo-9-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-5,5 <i>a</i> ,6,9-tetrahydroiso-benzofurano [6,5- <i>f</i>][1,3]benzodioxol-8 <i>a</i> -yl]acetate	44.08	0.90	没药	MY23
MOL001131	phellamurin_qt	56.60	0.39	没药	MY24
MOL001138	(3 <i>R</i> ,20 <i>S</i>)-3,20-dihydroxydammar-24-ene	37.49	0.75	没药	MY25
MOL001148	3 β -hydroxydammar-24-ene	40.27	0.82	没药	MY26
MOL001156	3-methoxyfuranoguaia-9-en-8-one	35.15	0.18	没药	MY27
MOL001175	guggulsterone	42.45	0.44	没药	MY28
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	没药	MY29
MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76	没药	MY30
MOL000490	petunidin	30.05	0.31	没药	MY31
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	没药	MY32
MOL000988	4,17(20)-(cis)-pregnadiene-3,16-dione	51.42	0.48	没药	MY33
MOL000996	guggulsterol IV	33.59	0.74	没药	MY34
MOL001215	tirucallol	42.12	0.75	乳香	RX1
MOL001241	<i>O</i> -acetyl- α -boswellic acid	42.73	0.70	乳香	RX2
MOL001243	3 α -hydroxy-olean-12-en-24-oic-acid	39.32	0.75	乳香	RX3
MOL001255	boswellic acid	39.55	0.75	乳香	RX4
MOL001263	3-oxo-tirucallic,acid	42.86	0.81	乳香	RX5
MOL001295	phyllocladene	33.40	0.27	乳香	RX6
	androst-4-ene-3,17-dione			麝香	M1
	testosterone			麝香	M2
	3,5-dihydroxybenzoic acid			麝香	M3
	musennin			麝香	M4

表 1 (续)

编号	有效成分	OB/%	DL	来源	代码
	17-beta-estradiol			麝香	M5
	allantoin			麝香	M6
	3-methylcyclotridecan-1-one			麝香	M7
	muscopyridine			麝香	M8
	5-cis-cyclopentadecen-1-one			麝香	M9
	decamine			麝香	M10
	musclide A1			麝香	M11
	estragole			麝香	M12
	cyclotetradecan-1-one			麝香	M13
	3beta-hydroxy-5alpha-androstan-17-one			麝香	M14
	alpha-estradiol			麝香	M15
	androsterone			麝香	M16
	cycloviobuxine			麝香	M17
	cholesterol			麝香	M18
	muscone			麝香	M19
	2,6-decamethylene pyridine			麝香	M20
	3alpha-hydroxy-5alpha-androstan-17-one			麝香	M21
	muscol			麝香	M22
	normuscone			麝香	M23
	2,6-nonamethylene pyridine			麝香	M24
	5-cis-cyclotetradecen-1-one			麝香	M25

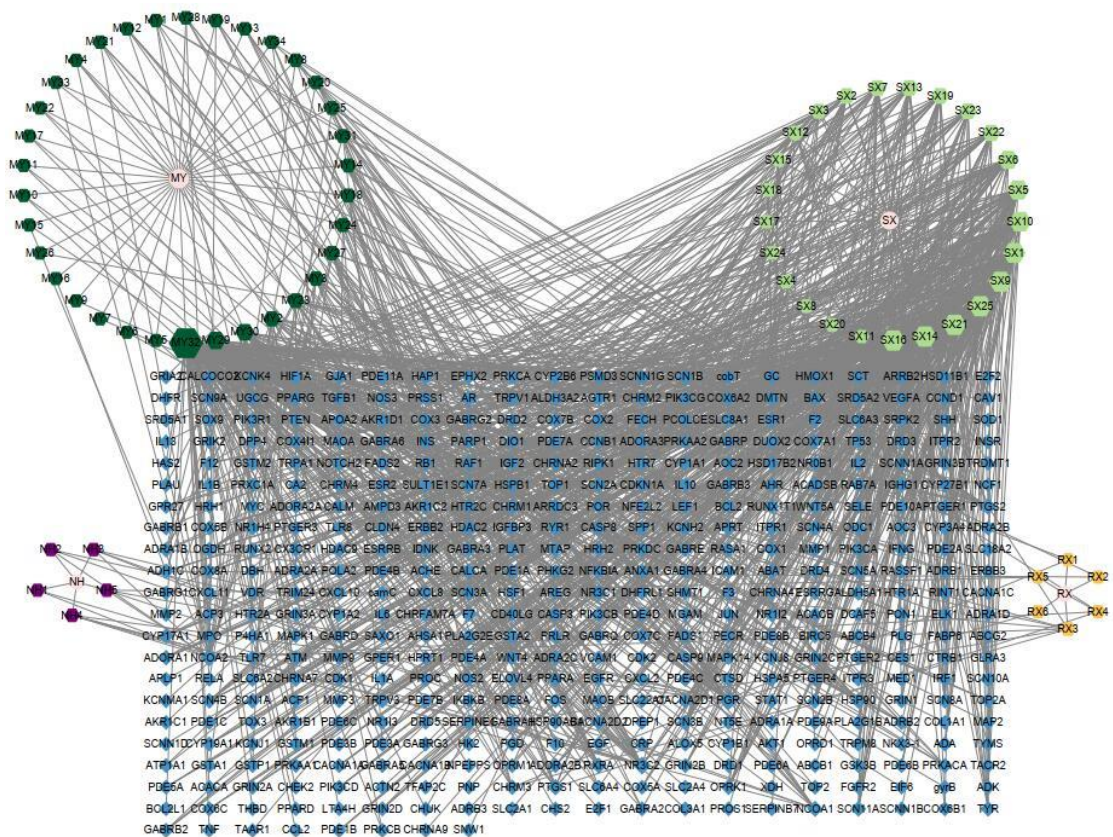


图 1 西黄丸“药物 - 活性成分 - 作用靶点”网络图

Fig. 1 Xihuang Pills “drug - active ingredient - target” network diagram

表 2 西黄丸主要活性成分

Table 2 Main active ingredient of Xihuang Pills

有效成分	degree	来源
quercetin	147	没药
3alpha-hydroxy-5alpha-androstan-17-one	64	麝香
androsterone	64	麝香
3beta-hydroxy-5alpha-androstan-17-one	64	麝香
5-cis-cyclopentadecen-1-one	63	麝香
5-cis-cyclotetradecen-1-one	63	麝香
androst-4-ene-3,17-dione	59	麝香
decamine	58	麝香
17-beta-estradiol	54	麝香
allantoin	44	麝香

2.3 共同靶点及 PPI 网络

在 GeneCards 和 OMIM 数据库中分别找到相关靶点 1062、495 个，合并去重后得到宫颈癌疾病靶点 1 449 个，将西黄丸靶点与宫颈癌疾病靶点进行筛选得到交集基因靶点 116 个；通过 String 数据库，最终得到 114 个节点和 1 121 条边。通过 Cytoscape 3.9.1 软件生成 PPI 网络，该网络共包含 114 个节点和 1 121 条边。颜色越深、节点越大，degree 值越高，提示这些蛋白越重要。用插件 Centiscape 2.2 对 PPI 网络进行拓扑分析，以 CC 大于中位数 0.556 064 306、BC 大于中位数 0.003 372 877、degree 大于 2 倍中位数值 33，筛选得到肿瘤蛋白 P53 (TP53)、表皮生长因子受体 (EGFR)、蛋白激酶 B1(Akt1)、白细胞介素(IL)-6、原癌基因(MYC)、转录因子 AP-1(JUN)、半胱氨酸蛋白酶 3(CASP3)、IL-1B、肿瘤坏死因子(TNF)、雌激素受体 1(ESR1)、B 淋巴细胞 2(Bcl-2)、低氧诱导因子-1A(HIF-1A)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、V-Rel 网状内皮增生病毒癌基因同源物 A (RELA) 等 22 个核心靶点，见图 2~4。根据 degree 排名前 10 位的基因见表 3。这些靶点在西黄丸治疗宫颈癌中发挥主要作用。

2.4 GO 生物过程和 KEGG 通路富集分析

交集基因通过 DAVID 数据库进行富集分析，获得 1 018 个 GO 条目，包括生物过程 (BP) 805 个，主要包括细胞凋亡过程正负调控、RNA 聚合酶启动子的转录调控、对刺激反应的调控、细胞增殖调控、基因表达的调控等方面；细胞组成 (CC) 70 个，涉及转录因子复合体、细胞质、线粒体、细胞核、染色体等；分子功能 (MF) 143 个，涉及蛋白质结合、泛素蛋白连接酶结合、转录因子结合、蛋白质异构化活性等、蛋白激酶活性等。根据 P<

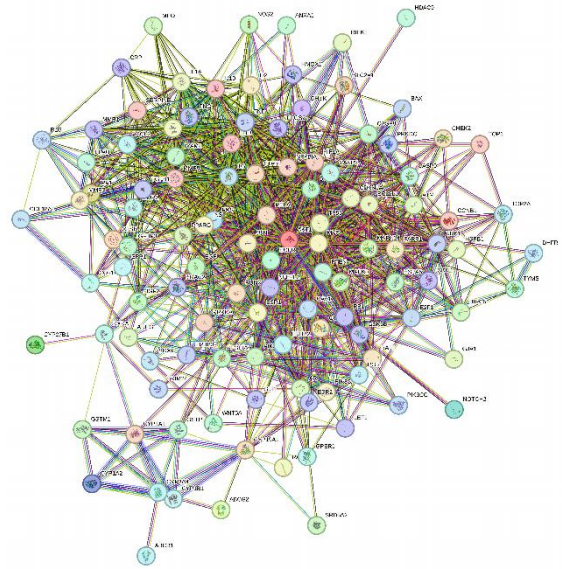


图 2 西黄丸 - 宫颈癌 PPI 网络

Fig. 2 Xihuang Pills - cervical cancer PPI network

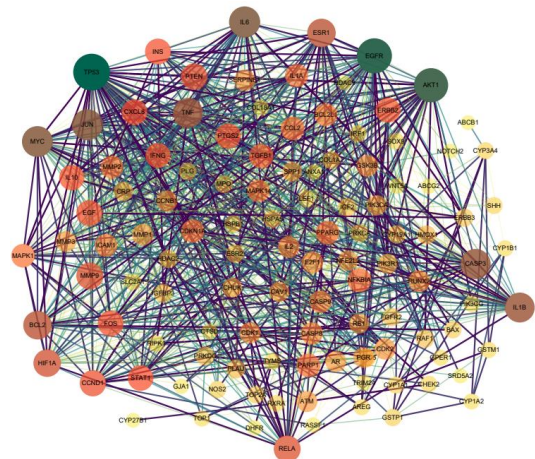


图 3 基于 Cytoscape 构建的 PPI 网络图

Fig. 3 PPI network diagram based on Cytoscape

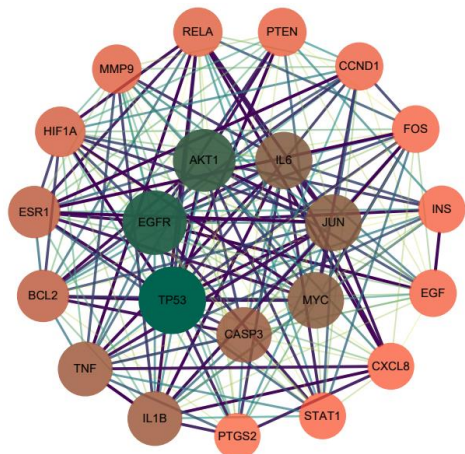


图 4 西黄丸 - 宫颈癌 PPI 关键靶点

Fig. 4 Key target PPI of Xihuang Pills - cervical cancer

表 3 交集基因靶点信息

Table 3 Intersection gene target information

靶点	degree
TP53	68
EGFR	63
Akt1	60
IL-6	51
MYC	50
JUN	50
CASP3	48
IL-1B	47
TNF	47
ESR1	43

0.05, 分别取排名前 10 位的的条目进行可视化处理, 见图 5。

通过 KEGG 富集分析共获得 164 条通路, 根据 $P < 0.01$, 取排名前 40 位的通路进行可视化处理, 见图 6。纵轴表示富集途径名称, 横轴表示基因比例。气泡颜色深浅与 P 值呈正比, 颜色越深 P 值越小; 气泡大小与基因数量呈正比, 气泡越大, 数量越多。结果显示涉及的通路主要有胰腺癌 (pancreatic cancer)、膀胱癌 (bladder cancer)、前列腺癌 (prostate cancer)、结直肠癌 (colorectal cancer)、

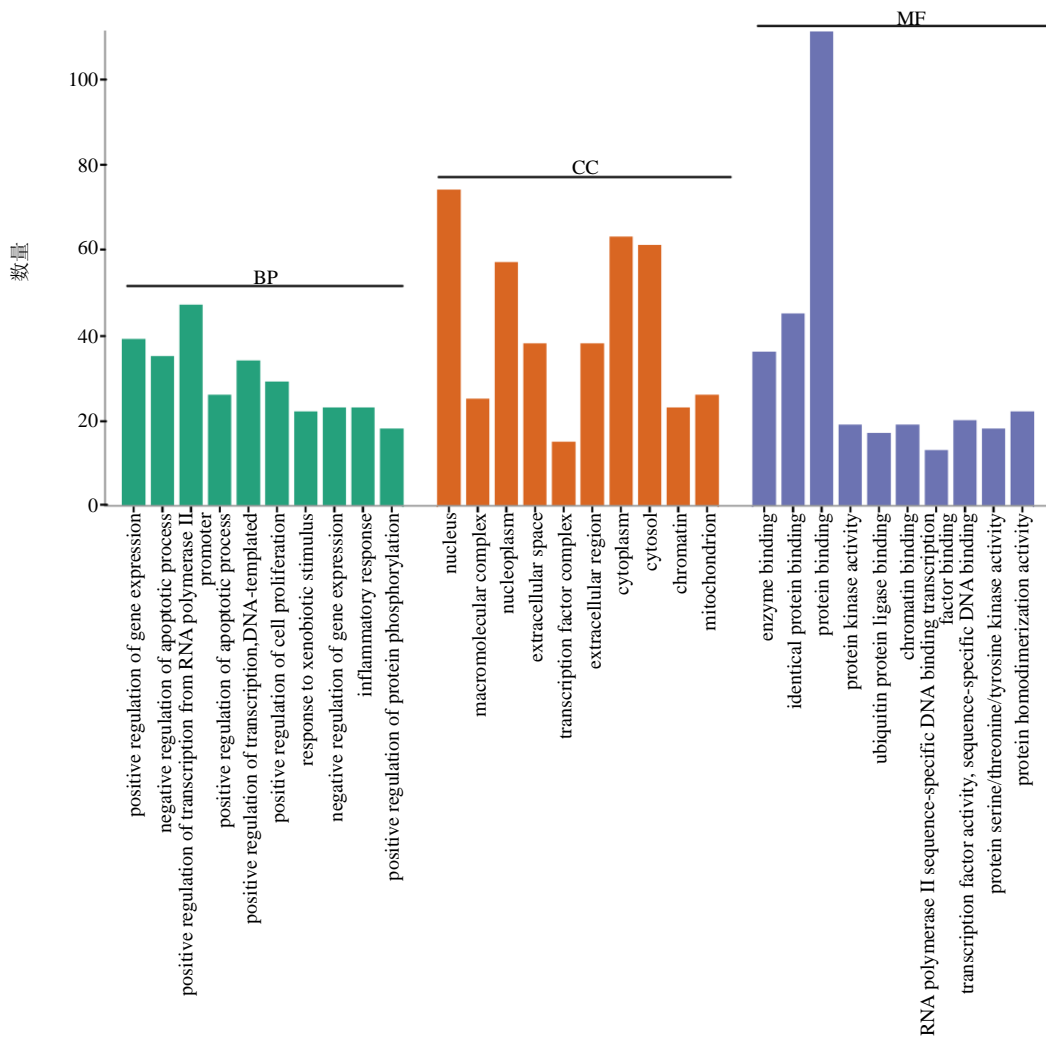


图 5 GO 功能富集分析

Fig. 5 GO functional enrichment analysis histogram

HIF-1、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt、TP53 等信号通路。

选取前 50 位富集通路中的 IL-17、TNF、PI3K/Akt、p53、HIF-1 信号通路, 构建“西黄丸 - 靶点 - 宫颈癌 - 通路”网络, 见图 7。

2.5 分子对接验证

对筛选得到的 10 个核心成分及 10 个核心靶点进行分子对接。并用结合能结果作图, 分子对接结合能热图见图 8 (在 BATMAN-TCM 数据库里显示雄甾酮与 3 α -羟基-5 α -17-酮显示为麝香的 2 种有效

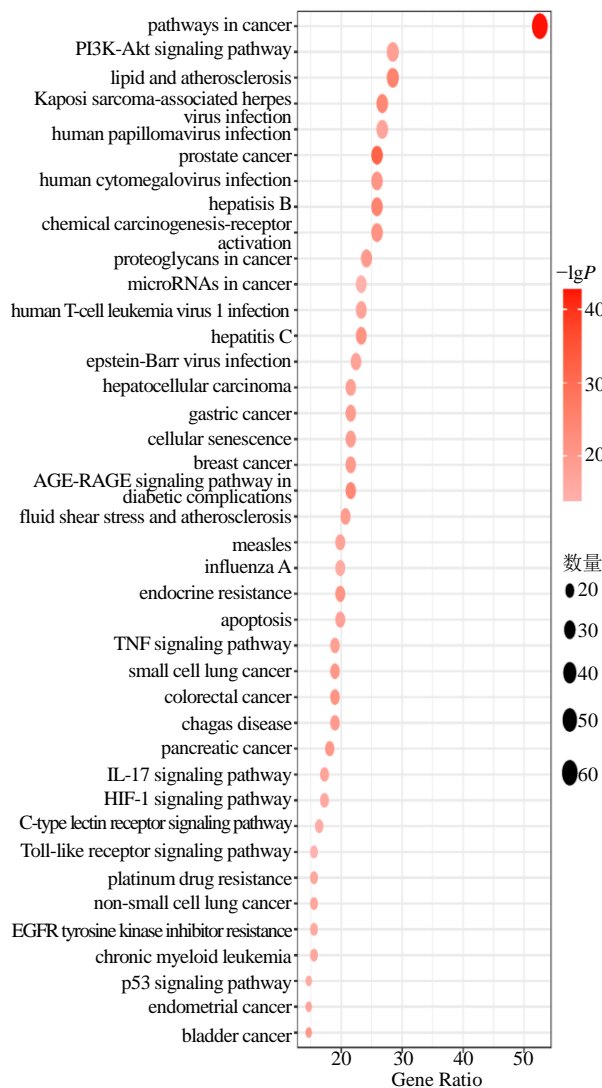


图 6 KEGG 通路富集分析

Fig. 6 KEGG pathway enrichment analysis bubble diagram

成分,在 PubChem 数据库显示其为同一化学结构)。最低结合能 ≤ -1.2 kcal/mol (1 cal=4.4 J),即表明药效分子与蛋白对接效果良好,结合能越低,分子与蛋白结合能力越好。其中结合自由能排名靠前的为表雄酮与 ESR1 (-10.45 kcal/mol)、雄甾酮 (3 α -羟基-5 α -17-酮)与 ESR1 (-9.97 kcal/mol)、4-雄烯二酮与 ESR1 (-9.95 kcal/mol)、雄甾酮 (3 α -羟基-5 α -17-酮)与 EGFR(-9.55 kcal/mol)、雌二醇与 ESR1 (-9.13 kcal/mol)、4-雄烯二酮与 Akt1 (-8.82 kcal/mol)。通过 Pymol 软件对上述的结果进行处理,见图 9。

3 讨论

通过活性成分-靶点网络图得知西黄丸关键活性成分有表雄酮、槲皮素、雄甾酮、3 α -羟基-5 α -

17-酮、5-顺-环十五烷-L-酮等。现代研究表明,槲皮素是一种具有高抗癌活性的天然类黄酮,特别是对于与人乳头瘤病毒 (HPV) 相关的宫颈癌等癌症具有治疗作用^[12]。槲皮素可通过诱导 ESR 通路促进宫颈癌 HELA 细胞的凋亡,达到抗肿瘤目的^[13]。研究表明,槲皮素具有作为化学预防/抗肿瘤剂的内在潜力,并通过逆转上皮-间充质转化 (EMT) 信号传导来减缓肿瘤进展^[14]。恶性肿瘤中的重组人泛素结合酶 E2-S (UBE2S) 通过 EMT 信号传导有助于细胞运动,并能被槲皮素逆转,且 UBE2S 可能有助于宫颈癌中 HIF-1A 信号传导。结果表明,槲皮素通过降低 UBE2S 表达对宫颈癌的转移抑制作用^[15]。这些研究不仅为抑制宫颈癌的转移提供了新的见解,也提示槲皮素在治疗宫颈癌中具有重要价值。表雄酮可以在机体内与脱氢表雄酮进行转化,已经有研究推测脱氢表雄酮可能通过抑制肿瘤细胞的增殖和迁移来预防或治疗宫颈癌^[16-17]。现在研究已经表明,雄甾酮具有很好的细胞毒活性,具有潜在的抗癌作用。因此,西黄丸能够通过相关通路调控肿瘤细胞的增殖转移,诱导凋亡。

通过西黄丸-宫颈癌靶点网络图推测西黄丸治疗宫颈癌的主要靶点包括 TP53、EGFR、Akt1、IL-6、MYC 基因、JUN、CASP3、TNF 等。TP53 基因的体细胞突变是人类癌症中最常见的改变之一,TP53 突变通过影响 DNA 损伤修复途径,减缓细胞周期,造成染色质重塑和细胞凋亡,从而影响肿瘤的发展过程,是肿瘤治疗潜在的预后和预测标志物,也是药物干预的靶标之一^[18-19]。宫颈癌的发生与 TP53 基因密切相关^[20],EGFR 水平的升高能够促进实体瘤生长^[21]。EGFR/Akt 信号传导的过度激活使 NANOG 肿瘤细胞对细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 杀伤具有抗性。NANOG/LC3B-p/EGFR 轴存在于各种类型的人类癌症中,并与宫颈癌患者的总生存率呈负相关^[22]。研究表明,通过抑制 EGFR 基因的表达水平,能够抑制宫颈癌细胞的细胞活力、增殖、迁移和癌症干细胞样表型,从而达到治疗宫颈癌的复发和转移的目的^[23]。研究表明, circ-Akt1 在宫颈癌样品和细胞系中的高表达,体内检测证实 circ-Akt1 会促进宫颈癌肿瘤生长^[24]。研究表明, IL-6 的表达与肿瘤大小、妇科肿瘤分期标准组织学分级和肿瘤分化显著相关。IL-6 表达阳性与预后不良显著相关,其被认为是宫颈癌预后和潜在治疗靶点的有价值的生物标志物^[25]。有学者提出 MYC 基因

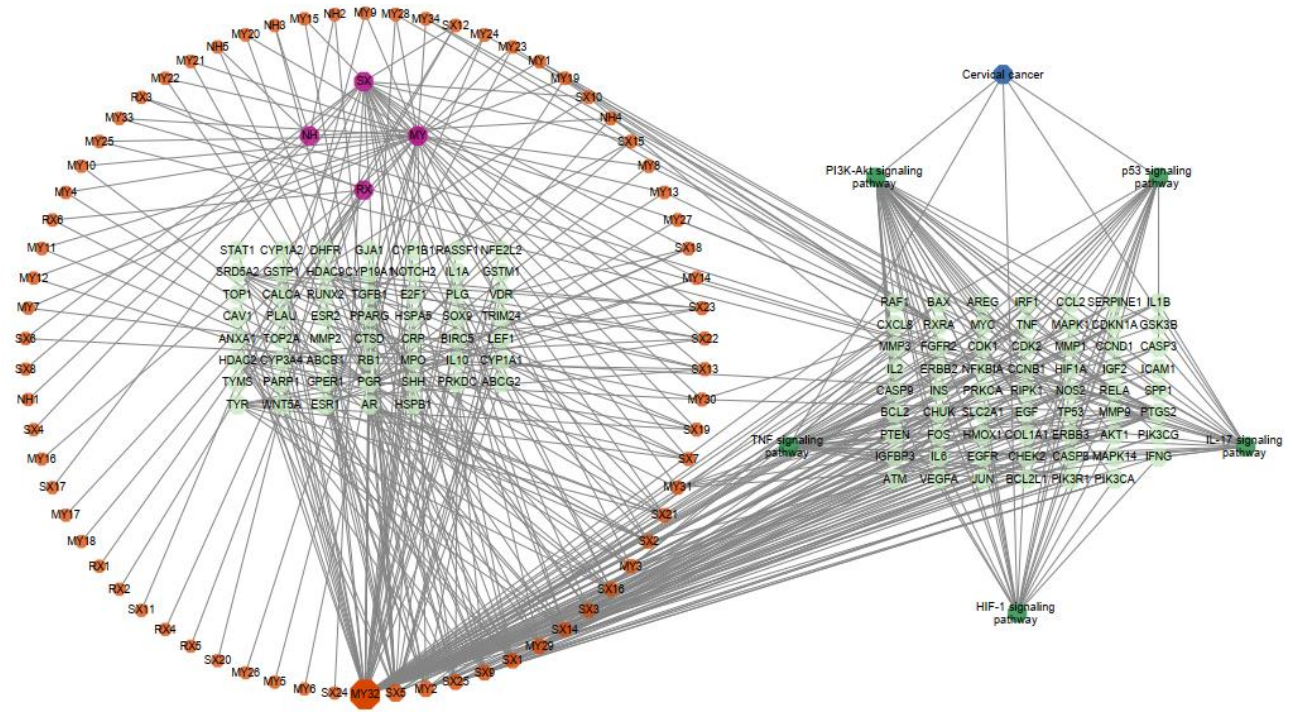


图 7 西黄丸 - 靶点 - 宫颈癌 - 通路互作网络

Fig. 7 Xihuang Pills - target - cervical cancer - pathway interaction network

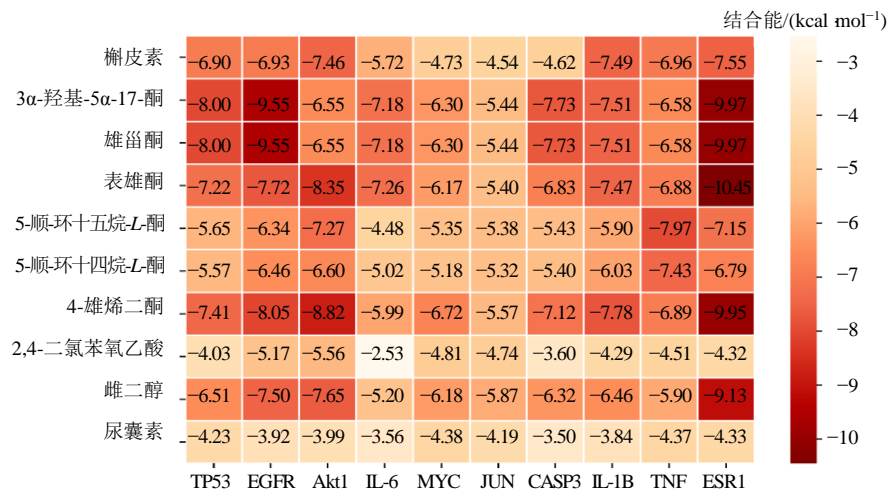


图 8 分子对接结合能热图

Fig. 8 Molecular docking binding energy heat map

的过表达促进了侵袭性宫颈癌的转移^[26]。有研究表明，TNF- α 启动子区域参与宫颈癌的发展^[27]。

通过 GO 富集分析可知，西黄丸治疗宫颈癌的生物功能主要涉及基因转录调控、信号调节、RNA 转录调控及对药物刺激的反应等；参与了蛋白质结合和酶结合等分子功能。KEGG 富集分析显示，西黄丸治疗宫颈癌涉及了多条信号通路，包括 IL17、TNF、PI3K/Akt、p53、HIF-1 等信号通路。IL-17 被

认为是炎症的重要因素。试验研究证明，IL-17 通过激活 Janus 激酶 2 (JAK2) /信号转导与转录激活因子 3 (STAT3) 和 PI3K/Akt/核因子- κ B (NF- κ B) 信号传导促进宫颈癌的进展^[28]。TNF 信号通路调控着细胞的生长和侵袭转移，对宫颈癌疾病的发展有着重要的作用^[29]。PI3K/Akt 信号通路调控着人宫颈癌细胞系 (CaSki、HELA) 的细胞活力和迁移，从而影响宫颈癌的复发和转移^[30]。研究表明，T 细胞免

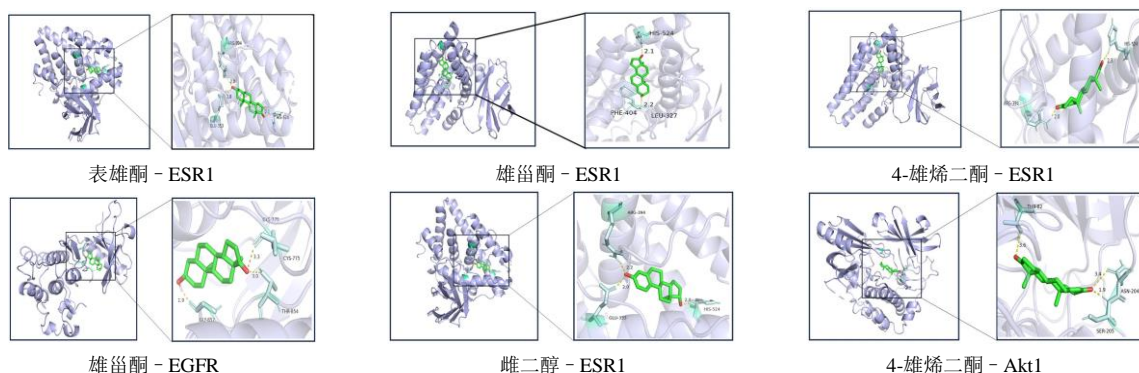


图 9 分子对接模式图

Fig. 9 Molecular docking model diagram

疫球蛋白黏蛋白-1 (TIM-1) 过表达通过调节 PI3K/Akt/p53 和 PI3K/Akt/mTOR 信号通路促进细胞迁移和侵袭, 抑制宫颈癌细胞凋亡, 可能是该病的候选诊断生物标志物^[31]。研究表明, HIF 信号通路可能在宫颈癌中起关键作用^[32], 参与宫颈癌细胞的增殖和凋亡^[33-35]。

本研究采用网络药理学结合分子对接的方法, 筛选分析西黄丸和宫颈癌的相关靶点, 并对药物的活性成分和重要靶点进行分子对接, 对接结果均良好, 由此可以推断西黄丸发挥主要作用的活性成分有槲皮素、表雄酮、雄甾酮等; 潜在治疗靶点是 TP53、EGFR、Akt1、IL-6、MYC、TNF 等; 相关调控通路有 IL17、TNF、PI3K/Akt、p53、HIF-1、癌症等信号通路。由此得知西黄丸治疗宫颈癌的作用靶点是多途径、多层面的, 为西黄丸的后续实验研究提供了更多的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 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.

[2] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 子宫颈癌诊断与治疗指南 (2021 年版) [J]. *中国癌症杂志*, 2021, 31(6): 474-489.

[3] 周杰, 商雪莹, 佟玲, 等. 西黄丸 HPLC-ELSD 指纹图谱研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(11): 2219-2224.

[4] 陈菁, 徐洋, 王俊杰, 等. 西黄丸对三维适形放疗联合腔内后装放疗治疗中晚期宫颈癌近期疗效影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2016, 25(26): 2916-2918.

[5] 杜旦锋, 郭丽, 盛丽娜, 等. 西黄丸抗肿瘤转移作用及其机制研究 [J]. *中药材*, 2018, 41(8): 1995-1998.

[6] 金沈锐, 张新胜, 祝彼得, 等. 西黄丸对肝癌细胞 SMMC7721 分泌的血管内皮生长因子及基质金属蛋白酶 2、9 的影响 [J]. *中成药*, 2008(7): 1079-1081.

[7] 王贺义. 西黄丸对人肾母细胞瘤 SK-NEP-1 细胞增殖、凋亡的影响及其机制的探讨 [D]. 郑州: 郑州大学, 2018.

[8] 任瑶, 江一鸣, 项蓉蓉, 等. 西黄丸组分中药调节肿瘤微环境中 Treg 细胞 PI3K/AKT 通路的抗肿瘤作用机制研究 [J]. *药物评价研究*, 2019, 42(3): 437-443.

[9] 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.

[10] Ru J, Li P, Wang J, *et al.* TCMSp: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.

[11] Liu Z, Guo F, Wang Y, *et al.* BATMAN-TCM: A bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21146.

[12] Ferreira M, Gomes D, Neto M, *et al.* Development and characterization of quercetin-loaded delivery systems for increasing its bioavailability in cervical cancer cells [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(3): 936.

[13] He C, Lu X, Li J, *et al.* The effect of quercetin on cervical cancer cells as determined by inducing tumor endoplasmic reticulum stress and apoptosis and its mechanism of action [J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(5): 5240-5247.

[14] Lin Y S, Tsai P H, Kandaswami C C, *et al.* Effects of dietary flavonoids, luteolin, and quercetin on the reversal of epithelial-mesenchymal transition in A431 epidermal cancer cells [J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(10): 1829-1839.

[15] Lin T H, Hsu W H, Tsai P H, *et al.* Dietary flavonoids, luteolin and quercetin, inhibit invasion of cervical cancer by reduction of UBE2S through epithelial-mesenchymal transition signaling [J]. *Food Funct*, 2017, 8(4): 1558-1568.

[16] Chalbot S, Morfin R. Human liver S9 fractions:

- metabolism of dehydroepiandrosterone, epiandrosterone, and related 7-hydroxylated derivatives [J]. *Drug Metab Dispos*, 2005, 33(4): 563-569.
- [17] Ortega-Calderón Y N, López-Marure R. Dehydro epiandrosterone inhibits proliferation and suppresses migration of human cervical cancer cell lines [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(8): 4039-4044.
- [18] Kaur R P, Vasudeva K, Kumar R, *et al*. Role of p53 gene in breast cancer: Focus on mutation spectrum and therapeutic strategies [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(30): 3566-3575.
- [19] Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: Origins, consequences, and clinical use [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(1): a001008.
- [20] Nakamura M, Obata T, Daikoku T, *et al*. The association and significance of p53 in gynecologic cancers: The potential of targeted therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(21): 5482.
- [21] Nicholson R I, Gee J M, Harper M E. EGFR and cancer prognosis [J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37 Suppl 4: S9-S15.
- [22] Kim S, Cho H, Hong S O, *et al*. LC3B upregulation by NANOG promotes immune resistance and stem-like property through hyperactivation of EGFR signaling in immune-refractory tumor cells [J]. *Autophagy*, 2021, 17(8): 1978-1997.
- [23] Mustofa, Satriyo P B, Suma A A Tri, *et al*. A potent EGFR inhibitor, N-phenyl pyrazoline derivative suppresses aggressiveness and cancer stem cell-like phenotype of cervical cancer cells [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2022, 16: 2325-2339.
- [24] Ou R, Mo L, Tang H, *et al*. circRNA-AKT1 sequesters miR-942-5p to upregulate AKT1 and promote cervical cancer progression [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 20: 308-322.
- [25] Song Z, Lin Y, Ye X, *et al*. Expression of IL-1 α and IL-6 is associated with progression and prognosis of human cervical cancer [J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 4475-4481.
- [26] Yuan H, Krawczyk E, Blancato J, *et al*. HPV positive neuroendocrine cervical cancer cells are dependent on Myc but not E6/E7 viral oncogenes [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45617.
- [27] Deshpande A, Nolan J P, White P S, *et al*. TNF-alpha promoter polymorphisms and susceptibility to human papillomavirus 16-associated cervical cancer [J]. *J Infect Dis*, 2005, 191(6): 969-976.
- [28] Bai Y, Li H, Lv R. Interleukin-17 activates JAK2/STAT3, PI3K/Akt and nuclear factor- κ B signaling pathway to promote the tumorigenesis of cervical cancer [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(5): 1291.
- [29] Li M, Ren C X, Zhang J M, *et al*. The effects of miR-195-5p/MMP14 on proliferation and invasion of cervical carcinoma cells through TNF signaling pathway based on bioinformatics analysis of microarray profiling [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50(4): 1398-1413.
- [30] Chen Y H, Yang S F, Yang C K, *et al*. Metformin induces apoptosis and inhibits migration by activating the AMPK/p53 axis and suppressing PI3K/AKT signaling in human cervical cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(1): 88.
- [31] Chen L, Qing J, Xiao Y, *et al*. TIM-1 promotes proliferation and metastasis, and inhibits apoptosis, in cervical cancer through the PI3K/AKT/p53 pathway [J]. *BMC Cancer*, 2022, 22(1): 370.
- [32] Xu X, Liu T, Wu J, *et al*. Transferrin receptor-involved HIF-1 signaling pathway in cervical cancer [J]. *Cancer Gene Ther*, 2019, 26(11-12): 356-365.
- [33] Song L, Liu S, Zhang L, *et al*. MiR-21 modulates radiosensitivity of cervical cancer through inhibiting autophagy via the PTEN/Akt/HIF-1 α feedback loop and the Akt-mTOR signaling pathway [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(9): 12161-12168.
- [34] Su X, Lang C, Luan A, *et al*. MiR-200a promotes proliferation of cervical cancer cells by regulating HIF-1 α /VEGF signaling pathway [J]. *J BUON*, 2020, 25(4): 1935-1940.
- [35] Zhao X L, Yu C Z. Vosaroxin induces mitochondrial dysfunction and apoptosis in cervical cancer HeLa cells: Involvement of AMPK/Sirt3/HIF-1 pathway [J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 290: 57-63.

[责任编辑 高源]