

基于网络药理学、分子对接与体外实验探讨紫苏抗肺腺癌的作用机制

彭琳茜, 张 涛, 闫冬梅, 高吴陆怡, 王静艳, 商 宇*

佳木斯大学 基础医学院 微生态 - 免疫调节网络与相关疾病重点实验室, 黑龙江 佳木斯 154007

摘要: **目的** 基于网络药理学、分子对接与体外实验探讨紫苏抗肺腺癌的作用机制。**方法** 通过中药系统药理学数据库与分析平台收集紫苏的活性成分及其相应靶点, 利用 OMIM 和 GeneCards 数据库预测肺腺癌相关靶点, 使用 Venny 2.1.0 工具获得紫苏与肺腺癌的交集靶点。利用 Cytoscape 3.9.0 软件构建药物 - 靶点 - 疾病网络并筛选核心活性成分, 利用 STRING 工具与 Cytoscape 软件构建交集靶点的蛋白质 - 蛋白质相互作用 (PPI) 网络并筛选核心靶点, 通过 Metascape 工具完成交集靶点的基因本体 (GO) 及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析, 利用 AutoDockTools 1.5.7 软件完成活性成分与核心靶点的分子对接。使用活性成分 β -谷甾醇与阳性对照药物顺铂处理人非小细胞肺癌 A549 细胞, 并通过细胞计数试剂盒-8 (CCK-8) 检测细胞活力并计算药物半数抑制浓度 (IC_{50}), 通过流式细胞术检测细胞凋亡, 通过 Western blotting 检测信号通路相关蛋白的表达水平。**结果** 从紫苏中筛选出 14 个活性成分, 并获得 48 个紫苏药物靶点和肺腺癌的交集靶点; 明确了木犀草素、 β -胡萝卜素和 β -谷甾醇 3 种核心成分, 以及肿瘤蛋白 53 (TP53)、表皮生长因子受体 (EGFR)、白细胞介素-6 (IL-6)、蛋白激酶 B1 (Akt1) 与胱天蛋白酶-3 (CASP3) 5 个核心靶点。富集分析发现, 交集靶点富集于细胞对化学压力的反应等生物过程基因集、膜筏等细胞成分基因集、DNA 结合转录因子结合等分子功能基因集以及磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt 等信号通路。分子对接结果表明 β -谷甾醇等成分与 EGFR 等核心靶点具有良好的结合能力。CCK-8 检测结果发现 β -谷甾醇对 A549 细胞活力具有抑制作用, 且具有浓度相关性, 其 IC_{50} 值为 $42 \mu\text{mol/L}$ 。流式细胞术结果表明, 随着 β -谷甾醇浓度的增加, A549 细胞凋亡率增加 ($P < 0.05$)。Western blotting 结果表明, $84 \mu\text{mol/L}$ β -谷甾醇组的 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 及 p-mTOR/mTOR 均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。**结论** β -谷甾醇等为紫苏的核心活性成分, 可通过靶向 EGFR、IL-6 等关键靶点调控 PI3K/Akt 等信号通路发挥抗肺腺癌作用。

关键词: 紫苏; 肺腺癌; 网络药理学; 分子对接; β -谷甾醇; 木犀草素; β -胡萝卜素; 表皮生长因子受体; 白细胞介素-6; PI3K/Akt 信号通路

中图分类号: R285; R286.4 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2026)05 - 1237 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.05.005

Mechanism of *Perilla frutescens* against lung adenocarcinoma based on network pharmacology, molecular docking, and *in vitro* experiments

PENG Linqian, ZHANG Tao, YAN Dongmei, GAO Wuluyi, WANG Jingyan, SHANG Yu

Key Laboratory of Microecology-Immune Regulatory Network and Related Diseases, School of Basic Medicine of Jiamusi University, Jiamusi 154007, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of *Perilla frutescens* against lung adenocarcinoma based on network pharmacology, molecular docking, and *in vitro* experiments. **Methods** The active components of *P. frutescens* and their corresponding targets were collected through the traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform. Lung adenocarcinoma-related targets were predicted using the OMIM and GeneCards databases. The intersection targets of *P. frutescens* and lung adenocarcinoma were obtained using the Venny 2.1.0 tool. A drug-target-disease network was constructed using Cytoscape 3.9.0 software to screen the core active components. The protein-protein interaction (PPI) network of the intersection targets was constructed using the STRING tool and Cytoscape software to screen the core targets. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analyses of the intersection targets were performed using the Metascape tool. Molecular docking between

收稿日期: 2026-01-20

基金项目: 黑龙江省外国专家项目 (G2024044)

作者简介: 彭琳茜, 研究方向是天然产物抗肿瘤机制研究。E-mail: 13555142063@163.com

*通信作者: 商 宇, 男, 博士, 研究方向为中草药抗肿瘤的机制研究。

the active components and core targets was carried out using AutoDockTools 1.5.7 software. Human non-small cell lung cancer A549 cells were treated with the active component β -sitosterol and the positive control drug cisplatin. Cell viability was detected using the cell counting Kit-8 (CCK-8) assay, and the half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) was calculated. Apoptosis was detected by flow cytometry. The expression levels of signaling pathway-related proteins were detected by Western blotting. **Results** Fourteen active components were screened from *P. frutescens*, and 48 intersecting targets between *P. frutescens* drug targets and lung adenocarcinoma were identified. Three core components (luteolin, β -carotene, and β -sitosterol) and five core targets tumor protein p53 (TP53), epidermal growth factor receptor (EGFR), interleukin-6 (IL-6), protein kinase B1 (Akt1), and Caspase-3 (CASP3) were determined. Enrichment analysis showed that the intersection targets were enriched in biological processes such as cellular response to chemical stress, cellular components such as membrane rafts, molecular functions such as DNA-binding transcription factor binding, and signaling pathways such as the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt pathway. Molecular docking results indicated that β -sitosterol and other components had good binding affinity with core targets such as EGFR. The CCK-8 assay showed that β -sitosterol inhibited the viability of A549 cells in a concentration-dependent manner, with an IC_{50} value of 42 μ mol/L. Flow cytometry results demonstrated that the apoptotic rate of A549 cells increased with increasing concentrations of β -sitosterol ($P < 0.05$). Western blotting results showed that the ratios of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-mTOR/mTOR were significantly decreased in the 84 μ mol/L β -sitosterol group ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). **Conclusion** β -Sitosterol and other components are the core active components of *P. frutescens*, which exert anti-lung adenocarcinoma effects by regulating signaling pathways such as the PI3K/Akt pathway through targeting key targets including EGFR and IL-6.

Key words: *Perilla frutescens* (L.) Britt.; lung adenocarcinoma; network pharmacology; molecular docking; β -sitosterol; luteolin; β -carotene; epidermal growth factor receptor; interleukin-6; PI3K/Akt pathway

肺癌是全球癌症发病率和死亡率的主要原因，每年约有 200 万人被诊断出肺癌，180 万人死于肺癌^[1]。肺腺癌是最常见的肺癌组织类型，占肺癌总比超过 40%^[2]。尽管有新的治疗方法，但肺腺癌的 5 年生存率仍低至 4%~17%^[3]。紫苏是分布广泛的药用和食用植物，全株化学成分丰富，表现出多种药理作用，包括抗菌、抗炎、抗过敏、抗抑郁和抗肿瘤^[4]。紫苏挥发油在体外实验中具有抑制人肺腺癌 LTP-a-2 细胞生长的作用，且呈剂量和时间相关性^[5]。但是，现有研究对紫苏抗肺腺癌的有效成分及机制尚没有详细阐明。网络药理学是一种从药物和疾病数据库中获得成分与靶点信息来系统揭示药物作用机制的研究方法，分子对接是一种通过计算模拟预测药物小分子与大分子（如蛋白质）之间如何结合及结合强度如何的方法^[6]。

本研究综合运用网络药理学、分子对接和细胞实验探索了紫苏抗肺腺癌的作用及其机制。研究发现 β -谷甾醇等为紫苏的核心活性成分。 β -谷甾醇是一种天然植物类固醇化合物，对多种肿瘤具有抗癌作用。 β -谷甾醇作为肉豆蔻的核心生物活性化合物，通过调节 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2)/Bcl-2 相关 X 蛋白/胱天蛋白酶-3 (Caspase-3) 通路显著抑制膀胱癌细胞的增殖与迁移，诱导膀胱癌细胞凋亡^[7]。 β -谷甾醇还被发现可以抑制胶质瘤 U87MG 细胞的存活及集落形成、侵袭和迁移能力^[8]。 β -谷甾醇也能通过上

调转录因子 TBX20 表达抑制结肠癌细胞增殖并加速细胞凋亡^[9]。本研究为紫苏在肺腺癌防治中的应用及新型天然抗肿瘤药物的研发提供实验基础与理论依据。

1 材料与方法

1.1 网络药理学分析

1.1.1 紫苏的活性成分及其相应靶点收集 使用中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, https://www.tcmsp-e.com/load_intro.php?id=43) 在线数据库，以“Zisu”为关键词进行检索，筛选条件限定为“口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 且类药性 (DL) ≥ 0.18 ”，获取紫苏的活性成分并收集成分所对应的靶点。利用 UniProt 蛋白标准化数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 将获取的靶点蛋白进行统一标准化，限定物种为“Homo sapiens”，去除重复后即得紫苏的作用靶点。

1.1.2 肺腺癌相关靶点预测 在 OMIM (<https://www.omim.org/>) 数据库中点击“Gene Map”，在搜索框中输入“lung adenocarcinoma”获取肺腺癌相关靶点。在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 数据库以“lung adenocarcinoma”作为关键词进行检索，得到的靶点根据 Relevance score 值进行排序，以 Relevance score ≥ 20 为阈值筛选靶点。合并 2 个疾病数据库靶点后，删除重复值得到肺腺癌相关靶点。

1.1.3 药物-靶点-疾病网络的构建 整理紫苏靶

点与肺腺癌靶点, 利用 Venny 2.1.0 (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 在线分析工具制作韦恩图取交集, 两者交集部分为紫苏抗肺腺癌的潜在作用靶点。将交集靶点数据归纳整理, 利用 Cytoscape 3.9.0 软件将结果可视化, 构建药物成分-靶点-疾病网络, 并筛选出度值排名前 3 的成分即为核心活性成分。

1.1.4 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建与核心靶点筛选 用在线工具 STRING (<https://cn.string-db.org/>) 构建 PPI 网络。在“Multiple proteins”中输入交集靶点的基因名称, Organism 选择“Homo sapiens”, 设置最低相互作用阈值为“high confidence (0.700)”, 其他参数保持默认设置, 获得蛋白质相互作用关系。将结果导入 Cytoscape 软件, 构建网络图并利用软件中的 CytoNCA 插件对网络图进行拓扑分析, 并筛选紫苏治疗肺腺癌的核心靶点。

1.1.5 富集分析 将紫苏与肺腺癌的交集作用靶点录入 Metascape (<http://metascape.org/>) 数据库进行分析。物种设置“Homo sapiens”, 设置阈值“ $P < 0.05$ ”, 进行基因本体 (GO) 及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析。

1.2 分子对接

利用 Openable 2.4.1 软件将紫苏 5 个活性成分的 SDF 文件转化为 PDB 格式, 在 RCSB PDB 数据库中下载核心靶点的 PDB 格式。使用 AutoDockTools 1.5.7 软件进行分子对接, 计算结合能。一般认为, 结合能 < -5.0 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.2 \text{ J}$) 表明两者具有较好的结合性。选择结合能排名前 4 的组合, 使用 PyMOL 3.0.3 软件绘制 3D 结合模式图。

1.3 体外实验

1.3.1 材料

人非小细胞肺癌 A549 细胞由本实验室保存留种。RPMI-1640 培养基 (货号 SH30809.01B) 购自美国 HyClone 公司; 胎牛血清 (货号 SA201.01) 购自澳大利亚 CellMax 公司; 顺铂 (货号 S1552) 购自上海碧云天生物技术股份有限公司; β -谷甾醇 (批号 S227307) 购自美国 Selleck 公司; 二甲基亚砜 (DMSO, 货号 D2650) 购自美国 Sigma 公司; 叔丁醇 (货号 80023918) 购自国药沪试公司; 细胞计数试剂盒-8 (CCK-8) (货号 CA1210)、膜联蛋白 V (Annexin V)-异硫氰酸荧光素 (FITC)/碘化丙啶 (PI) 凋亡检测试剂盒 (货号 CA1020) 购自北京索莱宝科技有限公司; β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体 (货

号 81115-1-RR) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; 丝氨酸/苏氨酸激酶 (Akt) 抗体 (货号 A17909) 购自武汉爱博泰克生物科技有限公司; 磷酸化 p-Akt 抗体 (货号 AF0908)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 抗体 (货号 AF5112) 均购自美国 Affinity 公司; 磷酸化 PI3K (p-PI3K) 抗体 (货号 bs-5570R) 购自北京博奥森生物技术有限公司; 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 抗体 (货号 R380411)、磷酸化 mTOR (p-mTOR) 抗体 (货号 R381548) 购自成都正能生物技术有限公司。

1.3.2 细胞培养 A549 细胞的完全培养基的配方是含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素双抗 ($100\times$) 和 1% *L*-丙氨酰-谷氨酰胺的 RPMI-1640, 培养条件是恒温 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 与 5% CO_2 。

1.3.3 CCK-8 法检测细胞活力 接种 1 000 个 A549 细胞至 96 孔板, 每孔加入 100 μL 培养基。 β -谷甾醇溶于叔丁醇, 顺铂溶于 DMSO。待细胞贴壁后, 用不同浓度 β -谷甾醇或顺铂 (0、0.5、1、2、4、8、16、32、64、128 $\mu\text{mol/L}$) 对 A549 细胞进行 24 h 处理, 每组设 3 个复孔^[10]。24 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 培养箱中孵育 30 min。用酶标仪在 450 nm 测定吸光度 (*A*) 值。根据 *A* 值计算细胞存活率, 并计算药物半数抑制浓度 (IC_{50})。选取 $1/2\times\text{IC}_{50}$ 、 IC_{50} 和 $2\times\text{IC}_{50}$ 浓度作为 β -谷甾醇的低、中、高剂量, 以 IC_{50} 浓度的顺铂作为阳性对照, 同时设置不用药物处理的对照组。

1.3.4 流式细胞术检测细胞凋亡 约 5×10^5 个细胞接种至 6 孔板。次日细胞贴壁长满后, 弃培养液, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗后更换为无胎牛血清的 RPMI-1640 培养基, 加入相应剂量的药物, 培养 24 h。培养结束后, 消化与收集细胞, 冷 PBS 洗涤, 1 mL $1\times\text{Binding Buffer}$ 重悬并调整细胞密度至 1×10^6 个/mL。取 100 μL 细胞悬液, 依次加入 5 μL Annexin V-FITC (室温避光混匀, 孵育 10 min)、5 μL PI (室温避光孵育 5 min), 最后加 PBS 至 500 μL 混匀, 1 h 内用流式细胞仪检测。重复 3 次。

1.3.5 Western blotting 检测信号通路相关蛋白的表达水平 收集各组 A549 细胞, 提取总蛋白, 并定量。加 $5\times$ 上样缓冲液, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min。蛋白样品经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离后, 转印至聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜。 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 封闭 1 h 后, 将 PVDF 膜孵育于稀释的 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR 抗体

(1 : 1 000) 或 β -actin 抗体 (1 : 10 000), 4 °C 过夜。含聚山梨酯-20 的 Tris 缓冲液 (TBST) 洗 PVDF 膜 3 次, 每次 10 min。加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的山羊抗兔二抗 (1 : 5 000) 孵育 1 h。重复 3 次, 曝光, 并保存图片。用 Image J 1.52a 软件评估蛋白灰度值。

1.4 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.0.0 软件分析实验数据, 分别采用 *t* 检验、单因素方差分析和双因素方差分

析对数据进行统计分析。

2 结果

2.1 紫苏的活性成分及其相应靶点收集

通过 TCMSP 数据库共得到 328 个紫苏的化学成分, 并筛选出 14 个活性成分, 分别为木犀草素、二十碳烯酸、 β -胡萝卜素、花青苷、丁香油酚葡萄糖苷、 β -谷甾醇、(+)-儿茶素、角鲨烯、 γ -谷甾醇、亚麻酸乙酯等, 见表 1。这 14 个活性成分共映射于 103 个药物靶点。

表 1 紫苏的活性成分

Table 1 Active components of *Perilla frutescens*

分子 ID	英文名	中文名	OB/%	DL
MOL000006	luteolin	木犀草素	36.16	0.25
MOL005030	gondoic acid	二十碳烯酸	30.70	0.20
MOL002773	beta-carotene	β -胡萝卜素	37.18	0.58
MOL006209	cyenin	花青苷	47.42	0.76
MOL006210	eugenyl glucoside	丁香油酚葡萄糖苷	40.52	0.23
MOL000358	beta-sitosterol	β -谷甾醇	36.91	0.75
MOL000492	(+)-catechin	(+)-儿茶素	54.83	0.24
MOL001506	supraene	角鲨烯	33.55	0.42
MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	多孔甾醇	36.91	0.75
MOL006202	LAX	顺-8,11,14-二十碳三烯酸	44.11	0.20
MOL000953	CLR	胆固醇	37.87	0.68
MOL001749	ZINC03860434	—	43.59	0.35
MOL007514	methyl icoso-11,14-dienoate	甲基二十碳-11,14-联烯酯	39.67	0.23
MOL007179	linolenic acid ethyl ester	亚麻酸乙酯	46.10	0.20

2.2 肺腺癌相关靶点

通过 OMIM 和 GeneCards 数据库分别获取肺腺癌相关靶点 244、645 个。2 个数据库的靶点合并后共得到疾病靶点 845 个。紫苏的药物靶点和肺腺癌的疾病靶点共有 48 个交集靶点, 见图 1。

2.3 药物 - 靶点 - 疾病网络的构建

利用药物成分与交集靶点构建的药物 - 靶点 -

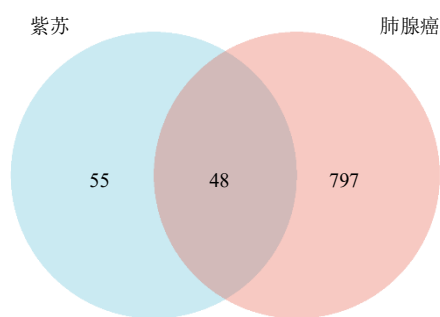


图 1 紫苏药物靶点和肺腺癌疾病靶点的韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of *P. frutescens* drug targets and lung adenocarcinoma disease targets

疾病网络包含 63 个节点和 130 条边 (表示化合物和靶点之间的相互作用关系)。63 个节点中包括 1 种药物 (深绿色菱形)、1 种疾病 (深橘红色菱形)、13 种活性成分 (浅绿色椭圆形) 与 48 个作用靶点 (浅橘红色方形), 见图 2。结果表明在紫苏的有效成分中, 木犀草素 (分子 ID: MOL000006)、 β -胡萝卜素 (分子 ID: MOL002773)、 β -谷甾醇 (分子 ID: MOL000358) 与交集靶点之间存在着最为丰富的相互作用。这 3 种成分是紫苏治疗肺腺癌的核心成分。

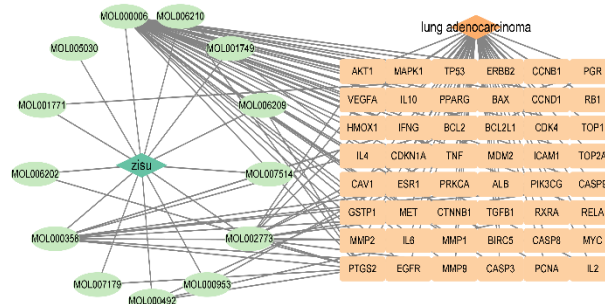


图 2 药物 - 靶点 - 疾病网络网络图

Fig. 2 Drug-target-disease network diagram

2.4 PPI 网络构建与核心靶点筛选

如图 3 所示, Cytoscape 计算发现肿瘤蛋白 53 (TP53)、表皮生长因子受体 (EGFR)、白细胞介素-6 (IL-6)、蛋白激酶 B1 (Akt1) 与胱天蛋白酶-3 (CASP3) 是 PPI 网络中程度值最高的 5 个蛋白, 其度值依次为 39、34、31、31、30。表明 TP53、EGFR、IL-6、Akt1 与 CASP3 是紫苏治疗肺腺癌的核心靶点。

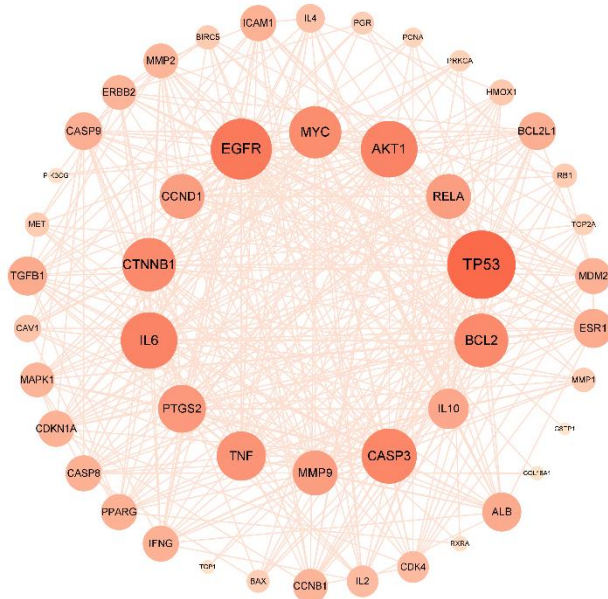


图 3 紫苏 - 肺腺癌交集靶点的 PPI 网络图

Fig. 3 PPI network diagram of intersection targets of *P. frutescens*-lung adenocarcinoma

2.5 富集分析

紫苏与肺腺癌交集靶点的 GO 富集分析结果中数量排名前 5 的条目见图 4。在生物过程 (BP) 中, 富集结果包括上皮细胞增殖、细胞对化学压力的反应等; 在细胞组成 (CC) 中, 富集结果包括转录调节复合物、膜筏等; 在分子功能 (MF) 中, 富集结果包括细胞因子受体结合、DNA 结合转录因子结合等基因集。KEGG 通路富集分析结果中数量排名前 20 的信号通路见图 5。富集到的通路包括 PI3K/Akt 信号通路、癌症中的蛋白聚糖等。以上结果提示紫苏可以通过参与调控多种生物学过程的多条通路发挥抗肺腺癌作用。

2.6 分子对接

紫苏治疗肺腺癌的核心成分木犀草素、 β -胡萝卜素、 β -谷甾醇与 5 个核心药物靶点的对接结果见表 2。除 β -胡萝卜素和 Akt1、 β -胡萝卜素和 CASP3 外, 5 个靶蛋白和各成分的结合能均小于 -5.0 kcal/mol,

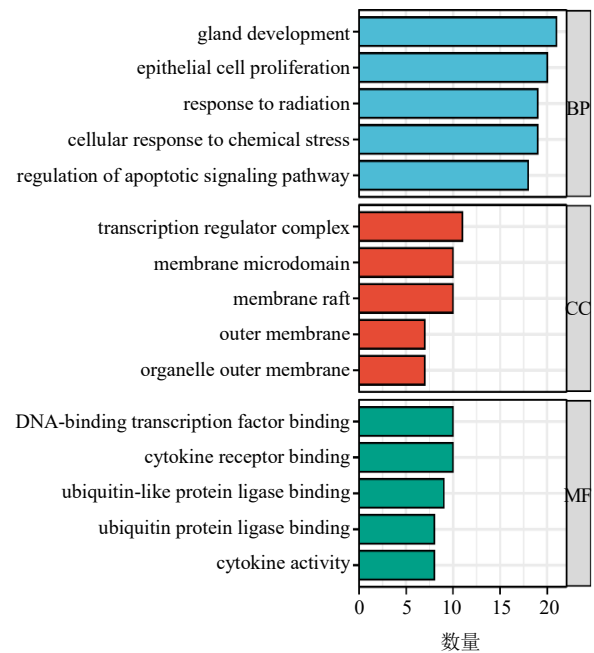


图 4 GO 富集分析

Fig. 4 GO enrichment analysis

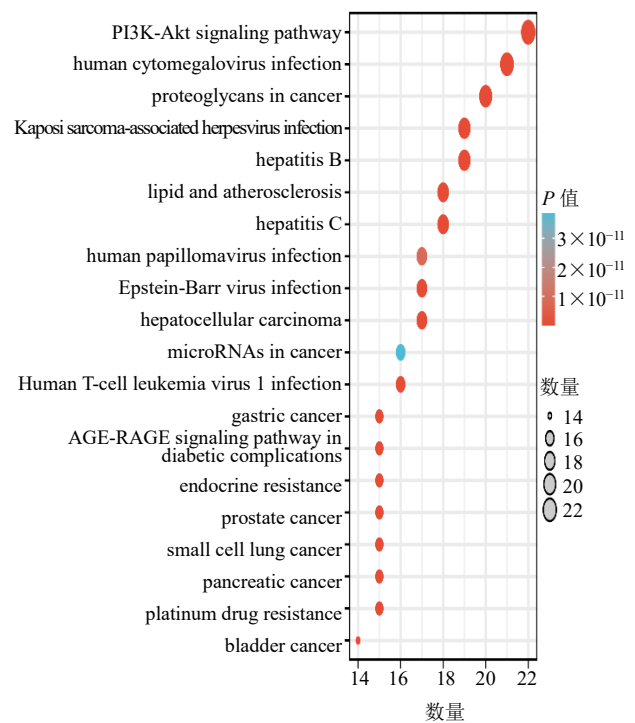


图 5 KEGG 富集分析

Fig. 5 KEGG enrichment analysis

具有较好的结合活性。 β -谷甾醇和 EGFR 的结合能最低, 为 -10.97 kcal/mol; 其次是 β -谷甾醇和 IL-6, 结合能为 -10.68 kcal/mol。排名前 4 的分子对接 3D 结合模式见图 6。

表 2 分子对接结果
Table 2 Results of molecular docking

Uniprot ID	结合能/(kcal·mol ⁻¹)				
	TP53	EGFR	IL-6	Akt1	CASP3
木犀草素	-5.47	-7.94	-5.76	-6.03	-5.66
β-胡萝卜素	-6.49	-6.99	-6.44	-1.58	-3.50
β-谷甾醇	-7.56	-10.97	-10.68	-7.13	-7.57

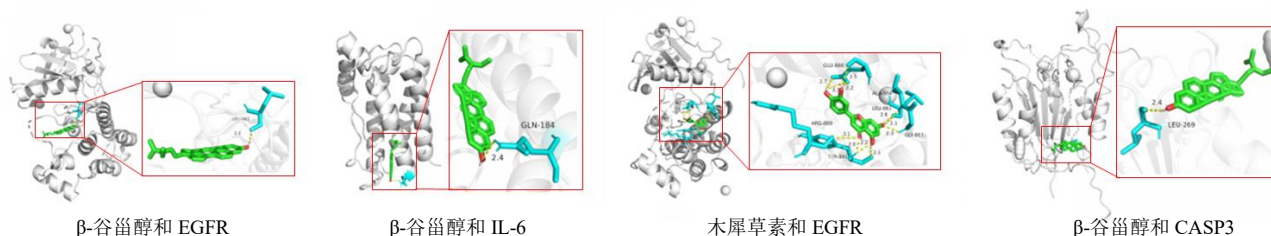


图 6 分子对接的 3D 模式图

Fig. 6 3D schematic diagram of molecular docking

2.7 β-谷甾醇对 A549 细胞存活率的影响

随着 β-谷甾醇药物浓度的增大，细胞活力呈现逐渐下降的趋势，说明 β-谷甾醇具有细胞抑制作用。β-谷甾醇、顺铂对 A549 细胞的 IC₅₀ 值分别为 42、38 μmol/L，见图 7。根据 IC₅₀ 值，后续实验分组设为对照组、β-谷甾醇低、中、高剂量组（21、42、84 μmol/L）和阳性对照组（顺铂 38 μmol/L）。

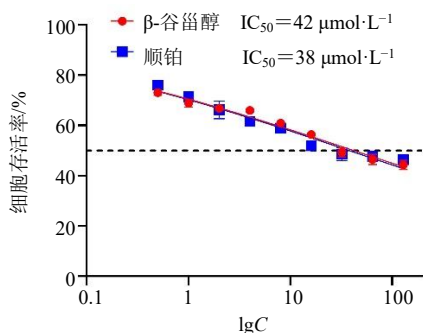


图 7 β-谷甾醇对 A549 细胞存活率的影响

Fig. 7 Effects of β-sitosterol on A549 cell survival rate

2.8 β-谷甾醇对 A549 细胞凋亡的影响

β-谷甾醇低、中、高剂量组的 A549 细胞及顺铂组的细胞凋亡数及细胞凋亡率明显高于对照组，组间比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$ 、 0.001)；且随着 β-谷甾醇浓度的升高，细胞凋亡率逐渐增高，见图 8。提示 β-谷甾醇能诱导 A549 细胞的凋亡。

2.9 β-谷甾醇对 PI3K/Akt 通路相关蛋白表达水平的影响

与对照组比较，β-谷甾醇高剂量组 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 值显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)，β-谷甾醇低、中剂量组 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 值也显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)，见图 9。结果表明，β-谷甾醇能够抑制 PI3K/Akt 信号通路的活化。

3 讨论

癌症是严重威胁人类生命的公共卫生问题^[11]。

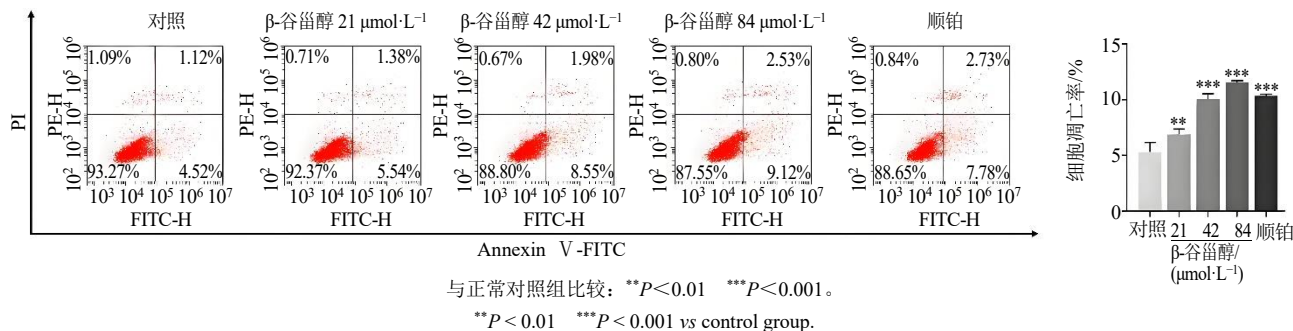


图 8 β-谷甾醇对 A549 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 8 Effects of β-sitosterol on apoptosis in A549 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

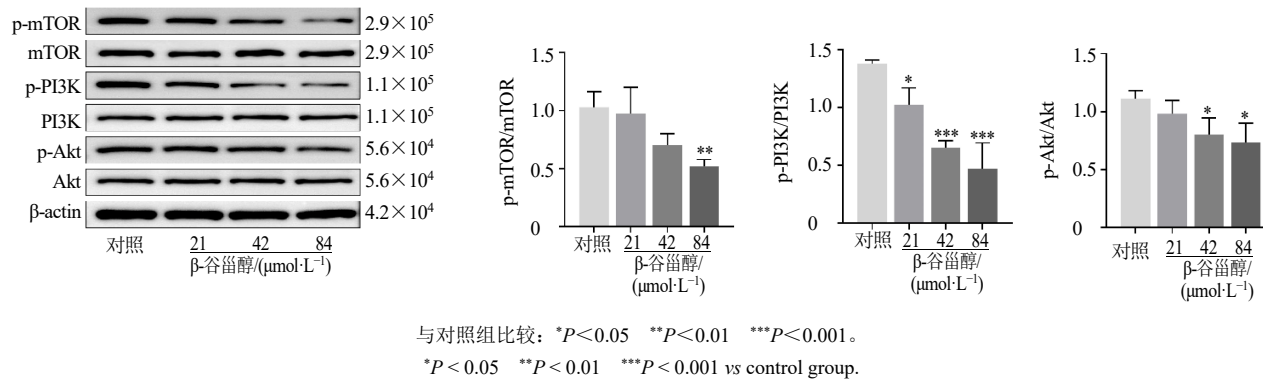


图 9 各组 PI3K/Akt/mTOR 通路相关蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 9 Expression levels of proteins related to the PI3K/Akt/mTOR pathway in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

肺腺癌是较为常见的肺癌类型。目前,手术、化疗、放疗和靶向治疗等肺腺癌标准治疗方法已经取得了不错的治疗效果,但相关不良反应制约了治疗方案的规范实施并影响了患者的综合获益。中草药及其天然产物具有价格低廉、不良反应小的独特优势,在抑制肺癌细胞生长、增殖、侵袭、转移、免疫逃避和上皮-间质转化以及调节炎症反应等方面都展现出重要作用^[12]。紫苏是唇形科的一年生草本植物,在亚洲多个国家广泛种植,其全株均可入药,对前列腺癌、肺癌等癌症具有潜在抗肿瘤作用^[13]。

本课题组利用网络药理学手段进一步探究了紫苏抗肺腺癌的有效成分及其潜在机制,发现紫苏抗肺腺癌的主要活性成分是β-谷甾醇、β-胡萝卜素和木犀草素。TP53、EGFR、IL6、Akt1与CASP3是紫苏抗肺腺癌的核心靶点。紫苏的主要活性成分与核心靶点之间大多具有较好的结合活性,相互作用排名靠前的包括β-谷甾醇和EGFR、β-谷甾醇和IL-6等。β-胡萝卜素是自然界中最丰富的类胡萝卜素之一,其作为维生素A的前体已被证实能够在某些癌细胞系中抑制细胞增殖^[14]。但是一项涉及167 141名参与者的荟萃分析研究发现,β-胡萝卜素补充剂量对肺癌风险变化程度没有显著影响^[15]。木犀草素作为紫苏中重要的黄酮类活性成分,其对肺腺癌细胞的抑制作用已得到实验验证。木犀草素可以抑制细胞周期蛋白B1/cdc2活性、促进p21表达,诱导细胞发生G₂/M期阻滞,从而抑制肺癌细胞的增殖^[16]。结合能越低表明活性成分与靶蛋白结合力越强。本研究中,β-谷甾醇与EGFR的结合能最低(-10.97 kcal/mol),其次为β-谷甾醇与IL-6(-10.68 kcal/mol),均优于木犀草素的结合能(-7.94 kcal/mol)。此外,β-谷甾醇的类药性(0.75)亦高于β-胡萝卜素(0.58)和木

犀草素(0.25)。综上,选取β-谷甾醇进行后续实验。

β-谷甾醇是一种具有四环三萜结构的植物甾醇,是功能性胆固醇控制食品的重要成分^[17]。在肺腺癌相关研究中,β-谷甾醇被发现与槲皮素联用能明显降低癌细胞存活率,联用β-谷甾醇还能显著增强槲皮素对PI3K/Akt信号通路的抑制^[18]。但是该研究未探讨β-谷甾醇对肺腺癌细胞的影响。紫苏与疾病的交集靶点显著富集于上皮细胞增殖、脂筏等基因集以及PI3K/Akt等信号通路。在体外验证实验中,β-谷甾醇以浓度相关的方式抑制肺腺癌细胞的活力与促进癌细胞的凋亡。42、84 μmol/L β-谷甾醇能够明显抑制PI3K/Akt相关蛋白的磷酸化,表明β-谷甾醇对PI3K/Akt信号通路具有抑制作用。在肺腺癌中,EGFR突变和PIK3CA突变都可以独立或共同导致PI3K/Akt/mTOR通路的过度激活;该信号通路是肺癌发生发展的核心调控通路之一,也是至关重要的治疗干预靶点^[19]。

综上所述,β-谷甾醇是紫苏抗肺腺癌的主要生物活性组分,木犀草素等成分也可能发挥重要的作用。PI3K/Akt信号通路是β-谷甾醇调控肺腺癌细胞恶性行为的关键通路。后续研究将通过体内实验来验证上述结论。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Chaitanya Thandra K, Barsouk A, Saginala K, *et al.* Epidemiology of lung cancer [J]. *Wo*, 2021, 25(1): 45-52.
- [2] Xin S W, Wen M M, Tian Y H, *et al.* Impact of histopathological subtypes on invasive lung adenocarcinoma: From epidemiology to tumour microenvironment to therapeutic strategies [J]. *World J Surg Oncol*, 2025, 23(1): 66.

- [3] Zhang L, Zhang Z, Yu Z L. Identification of a novel glycolysis-related gene signature for predicting metastasis and survival in patients with lung adenocarcinoma [J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 423.
- [4] 何育佩, 郝二伟, 谢金玲, 等. 紫苏药理作用及其化学物质基础研究进展 [J]. *中草药*, 2018, 49(16): 3957-3968.
- [5] 袁芑, 牛晓涛, 宋梦薇, 等. 紫苏挥发油对人肺癌细胞的体外抑制作用研究 [J]. *食品科技*, 2017, 42(2): 235-238.
- [6] Wang X Y, Wang Y C, Yuan T Y, *et al.* Network pharmacology provides new insights into the mechanism of traditional Chinese medicine and natural products used to treat pulmonary hypertension [J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156062.
- [7] Zhu Y K, Tang Z, Lu Z Y, *et al.* Mechanism of active component β -sitosterol from *Myristica fragrans* inducing apoptosis in bladder cancer cells *via* regulating the Bcl-2/Bax/Caspase-3 pathway [J]. *Front Oncol*, 2025, 15: 1698721.
- [8] Mei X, Zhang J F, Chen L, *et al.* Systematic network pharmacology and experimental validation reveal anti-glioma mechanisms of *Ganoderma lucidum* *via* multi-target regulation [J]. *Discov Oncol*, 2025, 16(1): 1467.
- [9] Yuan H X, Feng W Q, Yang S H, *et al.* β -sitosterol as an anti-tumour active component of *Herba Sarcandrae* inhibits colorectal cancer progression through up-regulation of TBX20 [J]. *J Cell Mol Med*, 2025, 29(17): e70809.
- [10] 谢雨芳. β -谷甾醇调节胶质瘤增殖、迁移和凋亡的作用及机制研究 [D]. 石河子: 石河子大学, 2022.
- [11] 赵娟, 张京京, 武雨晴, 等. 白藜芦醇脂质体对人肺腺癌 A549 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(14): 3469-3473.
- [12] Rao Z J, Wang Z Q, Deng H B, *et al.* Role of traditional Chinese medicine in lung cancer management: A review [J]. *Am J Chin Med*, 2025, 53(1): 97-117.
- [13] Huang S C, Nan Y, Chen G Q, *et al.* The role and mechanism of *Perilla frutescens* in cancer treatment [J]. *Molecules*, 2023, 28(15): 5883.
- [14] Baeza-Morales A, Medina-García M, Martínez-Peinado P, *et al.* The antitumour mechanisms of carotenoids: A comprehensive review [J]. *Antioxidants*, 2024, 13(9): 1060.
- [15] Kordiak J, Bielec F, Jabłoński S, *et al.* Role of beta-carotene in lung cancer primary chemoprevention: A systematic review with meta-analysis and meta-regression [J]. *Nutrients*, 2022, 14(7): 1361.
- [16] 王文浩, 李宗宏, 韩晨, 等. 木犀草素抗肺癌机制的研究进展 [J]. *现代中医药*, 2024, 44(6): 7-12.
- [17] 陈跃平, 谢婷, 张昊, 等. β -谷甾醇的生理功能及其在动物生产中的应用研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2022, 34(5): 2721-2731.
- [18] 俞杞泉, 叶玉涵, 吕春明, 等. 金宁方中 β -谷甾醇增进槲皮素诱导肺癌 A549 细胞凋亡作用 [J]. *世界临床药物*, 2024, 45(3): 276-284.
- [19] Khan A N, Jawarkar R D, Zaki M E A, *et al.* Targeting PI3K/Akt/mTOR signalling pathway in non-small-cell lung carcinoma: Exploring promising bioactive natural compounds as anti-cancer agents [J]. *Chem Phys Impact*, 2025, 10: 100793.

【责任编辑 金玉洁】