

基于 $^1\text{H-NMR}$ 代谢组学的凹叶景天抗肝癌作用及质量标志物 (Q-Marker) 预测

丘 琴^{1,2,3,4}, 李嘉豪¹, 姚 倩¹, 刘晓芳⁵, 韦红杏¹, 廖海涛¹, 龙淑川¹, 甄丹丹^{1*}, 王维生¹, 梁曼秋¹, 宋 铭^{6*}

1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530200
2. 广西高校中药提取纯化与质量分析重点实验室, 广西 南宁 530200
3. 广西壮瑶药重点实验室 (壮瑶药协同创新中心), 广西 南宁 530200
4. 中药学国家级实验教学示范中心 (广西中医药大学), 广西 南宁 530200
5. 梧州医学高等专科学校, 广西 梧州 543199
6. 广西壮族自治区人民医院, 广西 南宁 530000

摘要: 目的 探究凹叶景天 *Sedum emarginatum* 对 H22 荷瘤小鼠的抗肝癌作用, 运用核磁共振氢谱 ($^1\text{H-NMR}$) 代谢组学技术解析其作用机制, 筛选凹叶景天抗肝癌潜在质量标志物 (Q-Marker), 为其临床应用与质量控制提供实验依据。方法 构建 H22 荷瘤小鼠皮下移植瘤模型, 将小鼠随机分为对照组、模型组、5-Fu (阳性药, $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组和凹叶景天醋酸乙酯部位 (SEEA) 低、中、高剂量 [生药 15、30 (临床等效剂量)、 $60\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$] 组, 每组 10 只。造模成功后给药干预 14 d, 5-Fu 组隔日 ip, SEEA 各剂量组每日 ig, 对照组与模型组每日 ig 等体积 0.9% 氯化钠溶液。观察小鼠一般状态, 检测体质量、肿瘤相关指标并计算抑瘤率与脏器指数; 采用 ELISA 法检测血清白细胞介素 (IL)-2、IL-6、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 、干扰素 (IFN)- γ 含量; 通过 $^1\text{H-NMR}$ 技术检测血清内源性代谢物, 结合多元统计分析筛选差异代谢物, 经 MetaboAnalyst 6.0 进行代谢通路分析; 借助 Swiss Target Prediction 数据库筛选差异代谢物靶点, 与凹叶景天抗肝癌靶点取交集得到协同效应靶点, 将其与凹叶景天活性部位抗肝癌主要成分及靶点匹配, 筛选 Q-Marker。结果 SEEA 可显著改善 H22 荷瘤小鼠一般状态, 有效抑制肿瘤生长并调节脏器指数, 其中中剂量给药效果最佳; 能显著升高小鼠血清 IL-2、TNF- α 含量, 降低 IL-6、IFN- γ 含量 ($P < 0.05$ 、 0.01); 可显著下调荷瘤小鼠模型中低密度脂蛋白/极低密度脂蛋白 (LDL/VLDL)、乙酰乙酸、琥珀酸、亮氨酸、肌酸 5 种异常代谢物; 其抗肝癌作用主要调控丁酸代谢、三羧酸循环代谢通路; 筛选出纤溶酶原 (PLG) 为协同效应靶点, 匹配得到金腰乙素、木犀草素、山柰素、芹菜素、异鼠李素、苜蓿素、白杨素 7 种活性成分, 为凹叶景天抗肝癌潜在 Q-Marker。结论 凹叶景天具有显著的抗肝癌药效, 其作用可能通过调节机体炎症反应、能量代谢及氨基酸代谢实现, 初步揭示凹叶景天抗肝癌的 Q-Marker 及作用机制, 为其进一步开发利用提供实验支撑。

关键词: 凹叶景天; 抗肝癌; 核磁共振氢谱; 代谢组学; 质量标志物; 纤溶酶原; 金腰乙素; 木犀草素; 山柰素; 芹菜素; 异鼠李素; 苜蓿素; 白杨素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)04-1207-13

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2026.04.011

Prediction of quality markers (Q-Markers) and anti-hepatocellular carcinoma effects of *Sedum emarginatum* based on $^1\text{H-NMR}$ metabolomics

QIU Qin^{1, 2, 3, 4}, LI Jiahao¹, YAO Qian¹, LIU Xiaofang⁵, WEI Hongxing¹, LIAO Haitao¹, LONG Shuchuan¹, ZHEN Dandan¹, WANG Weisheng¹, Liang Manqiu¹, SONG Ming⁶

收稿日期: 2025-12-30

基金项目: 广西自然科学基金资助项目 (2023GXNSFAA026364); 广西自然科学基金资助项目 (2026GXNSFAA00640290); 2025 年大学生创新创业训练项目 (S202510600096); 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目-少数民族药学 (壮药学) (zyyzdxk-2023165); 广西高等学校千名中青年骨干教师教育计划项目 (桂教教师 (2022) 60 号); 广西中医药大学“桂派杏林青年英才”培养项目 (2022C032); 广西一流学科中药学 (民族药学) (桂教科研[2018]12 号), 2025 年广西中医药大学校级大学生创新训练项目 (X202510600098)

作者简介: 丘 琴 (1983—), 女, 教授, 博士, 博士生导师, 研究方向为中药药效物质及其质量评价。E-mail: 39446404@qq.com

***通信作者:** 甄丹丹 (1983—), 女, 助理研究员, 主要从事中药与药学的科研与教学。E-mail: 8zhen@163.com

宋 铭 (1990—), 男, 主治医师, 学士, 从事康复医学工作。E-mail: 261195338@qq.com

1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China
2. Key Laboratory of Extraction, Purification and Quality Analysis of Traditional Chinese Medicine in Guangxi Colleges and Universities, Nanning 530200, China
3. Guangxi Key Laboratory of Zhuang and Yao Medicine (Collaborative Innovation Center of Zhuang and Yao Medicine), Nanning 530200, China
4. National Experimental Teaching Demonstration Center for Chinese Materia Medica (Guangxi University of Chinese Medicine), Nanning 530200, China
5. Wuzhou Medical College, Wuzhou 543199, China
6. People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530000, China

Abstract: Objective To explore the anti-hepatocellular carcinoma effect of *Sedum emarginatum* on H22 tumor-bearing mice, and to analyze its mechanism of action using $^1\text{H-NMR}$ metabolomics technology. To screen potential quality markers (Q-Markers) of *S. emarginatum* for anti-hepatocellular carcinoma, providing experimental evidence for its clinical application and quality control. **Methods** A subcutaneous tumor model of H22-bearing mice was established. Mice were randomly divided into a control group, a model group, a 5-Fu (positive drug, $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) group, and low-, medium-, and high-dose *S. emarginatum* ethyl acetate fraction (SEEA) groups [crude drug 15, 30 (clinical equivalent dose), $60\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$], with 10 mice in each group. After successful modeling, drug intervention was carried out for 14 days. The 5-Fu group was ip injected every other day, and the SEEA groups were ig administered daily. The control group and the model group were ig administered the same volume of 0.9% sodium chloride solution daily. The general condition of the mice was observed, and body weight, tumor-related indicators were detected, and the tumor inhibition rate and organ index were calculated. The contents of serum interleukin (IL)-2, IL-6, tumor necrosis factor (TNF)- α , and interferon (IFN)- γ were detected by ELISA. The endogenous metabolites in the serum were detected by $^1\text{H-NMR}$ technology, and the differential metabolites were screened by multivariate statistical analysis. Metabolic pathway analysis was performed using MetaboAnalyst 6.0. The target points of the differential metabolites were screened using the Swiss Target Prediction database, and the intersection with the previous anti-hepatocellular carcinoma targets of *S. emarginatum* was taken to obtain the synergistic effect targets. These were matched with the main components and targets of the active fraction of *S. emarginatum* for anti-hepatocellular carcinoma to screen Q-Markers. **Results** SEEA could significantly improve the general condition of H22 tumor-bearing mice, effectively inhibit tumor growth, and regulate organ index, with the medium-dose administration showing the best effect. It could significantly increase the contents of IL-2 and TNF- α in the serum of mice and decrease the contents of IL-6 and IFN- γ ($P < 0.05, 0.01$). It could significantly restore five abnormal metabolites, including low-density lipoprotein/very low-density lipoprotein (LDL/VLDL), acetoacetate, succinic acid, leucine, and creatine, in the tumor-bearing mouse model. Its anti-hepatocellular carcinoma effect mainly regulated butyric acid metabolism and tricarboxylic acid cycle metabolism pathways. Plasminogen (PLG) was screened as a synergistic effect target, and seven active components, including Chrysosptertin B, luteolin, kaempferol, apigenin, isorhamnetin, formononetin, and chrysin, were matched as potential Q-Markers of *S. emarginatum* for anti-hepatocellular carcinoma. **Conclusion** *S. emarginatum* has a significant anti-hepatocellular carcinoma effect, which may be achieved by regulating the inflammatory response, energy metabolism, and amino acid metabolism of the body. The Q-Markers and mechanism of action of *S. emarginatum* for anti-hepatocellular carcinoma were preliminarily revealed, providing experimental support for its further development and utilization.

Key words: *Sedum emarginatum* Migo.; anti-liver cancer; nuclear magnetic resonance hydrogen spectrum ($^1\text{H-NMR}$); metabolomics; quality markers; chrysosptertin B; chrysophanol; luteolin; kaempferol; apigenin; isorhamnetin; formononetin; chrysin

肝癌是全球第 6 大常见恶性肿瘤,亦是癌症相关死亡的第 3 大原因。2025 年数据显示全球年新发 87 万例,我国新发 36.77 万例,占全球 42.5%,5 年生存率不足 15%,疾病负担极为严峻,若按现有趋势发展,肝癌新发病例数将近乎翻倍,从 2022 年的 87 万例增至 2050 年的 152 万例^[1-4]。当前肝癌治疗面临诸多瓶颈,多数患者早期症状隐匿、难以察觉,

确诊时已处于中晚期,错失根治性手术治疗的时机;即便采用免疫检查点抑制剂 (ICI) 联合治疗方案以提升疗效,其单药客观缓解率仅 14.7%~20.0%,联合治疗虽有改善,但仍存在疗效未达预期的问题,临床应用中仍面临耐药等相关挑战^[5]。肿瘤的高度异质性、免疫抑制性微环境,以及缺乏有效的预测性生物标志物,是造成现有治疗手段疗效

有限、耐药现象频发的核心原因^[6]。现代抗肝癌药物虽在治疗研究中取得较大进展,但在克服耐药等关键问题上仍难以突破。而中药凭借多成分、多靶点、整体调节的独特优势,成为肝癌综合治疗的重要补充策略,可通过“扶正固本、肃清毒源”的整体调控思路发挥治疗作用,在肝癌临床治疗中的价值愈发凸显^[7]。

凹叶景天 *Sedum emarginatum* Migo. 为广西民间治疗肝炎的常用道地药材,其化学成分种类丰富,主要包括黄酮类、萜类、酚酸类等,其中黄酮类为其核心活性部位,已从中鉴定出木犀草素、山柰素、芹菜素、异鼠李素、苜蓿素、白杨素、金腰乙素等代表性成分;此外还含有少量挥发油、甾醇类等物质,为本研究筛选凹叶景天抗肝癌质量标志物(Q-Markers)奠定了坚实的物质基础。

本课题组前期研究已证实,凹叶景天具有明确的抗肝癌活性,可通过上调 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)基因表达,诱导 HepG2 肝癌细胞凋亡;其总黄酮部位亦能显著抑制该细胞增殖^[8-9]。团队前期联合 UPLC-Q-TOF-MS/MS、网络药理学及分子对接技术,筛选并预测凹叶景天中槲皮素、山柰酚、原儿茶酸等为潜在抗肝癌 Q-Marker,初步阐明了其核心药效物质与作用靶点^[10]。但上述研究仅停留在成分预测与靶点分析层面,未开展体内动物实验验证,亦缺乏对免疫调节、代谢调控及整体抑瘤效应的系统评价。基于此,本实验首先明确凹叶景天在体内的抗肝癌药效,继而采用 ELISA 法检测小鼠血清炎症因子水平,并结合核磁共振氢谱(¹H-NMR)代谢组学技术分析生物体内源性小分子代谢物的变化,从代谢调控层面进一步揭示凹叶景天抗肝癌的 Q-Markers 及其潜在作用机制。

1 材料

1.1 试剂

重水(D₂O,批号 F2306065)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;磷酸盐缓冲溶液(PBS,批号 WH0022K249),购自武汉普诺赛生命科技有限公司;石油醚(分析纯,批号 20221011701)购自成都市科隆化学品有限公司;醋酸乙酯(分析纯,批号 220706)购自四川西陇科学有限公司;95%乙醇(批号 20220612)购自江苏通远工贸有限公司;0.9%氯化钠注射液(批号 H22052701)购自广西裕源药业有限公司;四季青胎牛血清(批号 22090702)

购自浙江天杭生物科技股份有限公司;RPMI 1640 培养基(批号 8122496)购自赛默飞世尔生物化学制品有限公司;5-氟脲嘧啶(5-Fu,批号 20240418)、青链霉素混合液 100×(批号 20220920)购自北京索莱宝科技有限公司;4%多聚甲醛固定液(批号 23067175)购自 biosharp 公司。

小鼠白细胞介素(IL)-2 酶联免疫试剂盒(批号 202403)、小鼠 IL-6 酶联免疫试剂盒(批号 202403)、小鼠 γ 干扰素(IFN- γ)酶联免疫试剂盒(批号 202403)、小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫试剂盒(批号 202403),购自北京诚林生物科技有限公司。

1.2 仪器

GmbH 500M 型核磁共振波谱仪(Bruker BioSpin 公司);ME204102 电子分析天平(上海市梅特勒-托利多仪器有限公司);Milli-Q 纯水仪(南宁市博美生物科技有限公司);KXM-P06H 超声波清洗机(昆山市小美超声仪器有限公司);DZF-6050 真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);Thermo Fisher 高速冷冻多用途离心机(四川优普超纯科技有限公司);BCD-259WTGPM 超低温冰箱(Midea);Fresco 21 高速冷冻离心机、Multiskan Sky 全波长酶标仪、Nanodrop One 超微量分光光度计(Thermo scientific);T100TM Thermal cycler PCR 扩增仪、CFX Connect™ Real-Time System RT-PCR 仪(BIO RAD);JXFSTPRP-CL-24 冷冻研磨仪(上海净信实业发展有限公司)。

1.3 动物

SPF 级雄性昆明小鼠,体质量 18~22 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,实验动物生产许可证号 SCXK(湘)2019-0004。小鼠在恒温(22±2)℃、恒湿(60±5)%及 12 h 的光照与黑暗交替的环境下饲养,适应性喂养 3 d 后开始正式实验。本研究的动物实验方案已取得广西中医药大学实验动物伦理委员会批准,批准号 DW20230302-014。

1.4 细胞

冻存于-80℃冰箱的肝癌 H22 细胞置于 37℃ 恒温水浴锅中解冻,完全融化后立即加入 3 倍冻存液体积的 RPMI 1640 完全培养基[含 RPMI 1640 基础培养基、10%胎牛血清(FBS)、1%青链霉素混合液],轻轻吹打混匀。以 800 r·min⁻¹、室温离心 5 min,弃去上清液,加入约 3 mL RPMI 1640 完全培养基重悬细胞沉淀至均匀,混匀置于 37℃、

5% CO₂饱和湿度培养箱中常规培养^[11]。

1.5 药材

凹叶景天药材(批号 202303)于 2023 年 3 月采自贵州省黔南布依族苗族自治州独山县,经广西一心药业副主任药师马利飞鉴定为景天科景天属凹叶景天 *Sedum emarginatum* Migo. 的全草。

取适量凹叶景天干燥药材,剪碎后加入 10 倍量 70%乙醇,浸泡 30 min 后进行 3 次回提取,提取时间依次为 2.0、1.5、1.0 h;合并 3 次提取滤液,减压浓缩制得 70%乙醇提取物浓缩液^[8]。将上述浓缩液依次用石油醚、醋酸乙酯各萃取 6~7 次,分别回收有机相;取醋酸乙酯萃取相浓缩成浸膏,经 60 °C 以下减压干燥,得到凹叶景天醋酸乙酯部位(SEEA)干浸膏,置于干燥器中密封保存备用,该部位得膏率为 1.285%。

2 方法

2.1 分组、造模及给药

取 SPF 级雄性昆明小鼠,随机分为对照组、H22 荷瘤模型组、5-Fu 组(阳性药)及 SEEA 低、中、高剂量组,每组 10 只。

取肝癌 H22 细胞,经无菌 PBS 缓冲液洗涤 2 次,调整细胞浓度至每毫升 1×10^7 个;75%乙醇消毒小鼠腹部后,每只 sc 0.2 mL 上述细胞悬液,待小鼠腹腔形成乳白色浓稠腹水后处死,无菌条件下抽取腹水,按上述相同方法连续腹腔传代 3 次,获得活力稳定的 H22 腹水瘤细胞,调整细胞浓度后冰浴备用;将小鼠右腋部位用 75%乙醇消毒,每只 sc 0.2 mL 上述腹水细胞悬液,接种后右侧腋下肉眼可见黄豆粒大小肿块,既造模成功^[12];对照组小鼠于相同部位按相同剂量 sc 0.9%氯化钠溶液,其余饲养条件与荷瘤小鼠一致。实验过程中每天需观察小鼠进食量、饮水情况、活动能力、背毛状态(倒竖、光泽)、肿瘤隆起程度、体质量变化、排泄情况、精神状态、存活和死亡的动物数量以及死亡的具体原因。造模成功后开始给药干预,给药周期共 14 d。5-Fu 组按 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量隔日 ip 1 次,每只 0.2 mL;SEEA 低、中、高剂量组分别按生药 15、30(临床等效剂量)、 $60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量每日 ig SEEA 液,每只 0.2 mL;对照组与模型组每日 ig 等体积 0.9%氯化钠溶液。各组小鼠均在相同环境下饲养,期间正常摄食饮水。

2.2 样本采集

末次给药 12 h 后,对所有小鼠行眼球取血,收集 0.5~1.0 mL 血液至血清管中, $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心

10 min,取上清液置于-80 °C 冰箱冻存待测。取血后处死小鼠并解剖,分离腋下肿瘤、胸腺及脾脏组织,精密称质量,计算抑瘤率与脏器指数;将每只小鼠的肿瘤组织均分为 2 份,一份用 4%多聚甲醛固定,用于后续病理检测,另一份置于液氮中保存备用。自小鼠接种部位出现肿瘤结节后,每日采用游标卡尺测量肿瘤长径(*a*)与短径(*b*),计算肿瘤体积(*V*)并绘制肿瘤生长曲线。

脏器指数 = 脏器质量/体质量

$V = ab^2/2$

抑瘤率 = (模型组肿瘤质量 - 给药组肿瘤质量)/模型组肿瘤质量

2.3 ELISA 法测定各组小鼠血清 IL-2、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 含量

取血浆样本,按试剂盒说明书检测血浆中 IL-2、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 含量。

2.4 血清 ¹H-NMR 代谢组学分析

2.4.1 血清 ¹H-NMR 样品制备 从-80 °C 冰箱中取出各组血清样本,常温下吸取 150 μL 血清置 2 mL 离心管中,加入 300 μL 的 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Na₂HPO₄/NaH₂PO₄ 缓冲液(pH 7.4),涡旋混匀,加入 50 μL D₂O。混合血清样品在 4 °C、 $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液 450 μL 置 5 mm 核磁管中,密封后用于 ¹H-NMR 谱的检测。

2.4.2 NMR 检测 样品在 25 °C 下于 500 MHz 核磁共振仪上测定,扫描次数 64,谱宽 10 kHz,脉冲时间 9.50 μs ,采样时间 3.28 s,弛豫时间 4 s,采样间隔 100 μs ,采用 cpmgpr1d 标准脉冲序列,预饱和方式压制水峰,以乳酸的甲基质子峰(δ 1.33)作为参考标准定标化学位移。

2.4.3 数据分析与统计 采用 MestReNova 14.0 软件对谱图进行相位和基线校正,乳酸的甲基质子峰(δ 1.33)作为参考标准定标化学位移,以 1×10^{-8} 为积分尺度、乳酸甲基共振双重峰(δ 1.33)为内标峰完成化学位移基准校正;移除水峰干扰区域(4.8~6.0)后,对 δ 0.5~9.0 的谱图区域进行分段积分,对积分数据进行归一化处理,将标准化后的数矩阵导出为文本文件。

2.4.4 多元统计学分析 将数据导入数据至 SIMCA 14.1 软件开展多元统计学分析,具体参数设置如下:①主成分分析(PCA):采用帕累托标准化进行数据预处理,主成分数设为 5,拟合方法选用非线性迭代偏最小二乘(NIPALS),置信区间为

95%，通过 PCA 得分图观察各组样本的自然聚类趋势，判断模型组与其他组间的分离情况；②正交偏最小二乘法 (OPLS-DA)：数据预处理方式同 PCA，潜在变量数设为 2；采用 7 折交叉验证验证模型稳定性，同时对分类矩阵变量进行 200 次随机排列并开展置换检验。以模型拟合优度 (R^2)、预测能力 (Q^2) 作为模型可靠性评价指标。评价 OPLS-DA 模型的可靠性。分析中以单个散点代表 1 个独立样本，不同颜色的形状区分不同实验组别，通过 OPLS-DA 中变量投影重要性 (VIP) 值 > 1 且方差检验 P 值 < 0.05 为标准，筛选血清中显著差异代谢物。

将差异代谢物导入 Swiss Target Prediction 数据库 (<http://swisstargetprediction.ch/>) 筛选其靶点，再将得出的代谢物靶点与本团队前期网络药理学筛选出的 140 个凹叶景天抗肝癌共同靶点^[10]取交集，最终得到凹叶景天抗肝癌的协同效应靶点。此外，将差异代谢物导入 MetaboAnalyst 6.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>) 平台，开展代谢通路富集分析，以 $\text{Impact} > 0.01$ 和 $-\lg P > 0.1$ 为标准筛选凹叶景天抗肝癌的主要代谢通路。

2.5 凹叶景天抗肝癌 Q-Markers 筛选

将凹叶景天抗肝癌的协同效应靶点与本团队前期网络药理学研究所得凹叶景天活性部位抗肝癌的主要成分及靶点^[10]进行化合物-靶点匹配分析，最终筛选得到凹叶景天抗肝癌的潜在 Q-Markers。

2.6 统计学分析

采用统计软件 SPSS 21.0 和 Origin 2021 统计软件进行统计分析和图表制作，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，统计分析采用单因素方差分析，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般状态观察结果

小鼠经皮下接种 H22 肝癌腹水细胞后，第 2 天

接种部位可陆续触及黄豆大小的肿瘤硬结。实验初期，各组小鼠精神状态良好，活动正常，皮毛顺滑且富有光泽，摄食、饮水均无明显异常。随给药周期延长，造模小鼠与对照组相比，逐渐出现活动迟缓、精神萎靡、毛色黯淡无光泽、眼球突出及摄食饮水量下降等现象，其中以模型组表现最为显著。实验观察期间，各组均无小鼠死亡。

3.2 荷瘤小鼠体质量变化情况

结果见表 1，给药第 0 天，与对照组相比，各组小鼠给药前的体质量均无统计学差异 ($P > 0.05$)。给药第 14 天，各组小鼠体质量均增加，模型组小鼠体质量显著增加 ($P < 0.01$)；与模型组相比，5-Fu 和 SEEA 中剂量组小鼠体质量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

表 1 SEEA 对各组小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 1 Effects of SEEA on body weight of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	第 0 天	第 14 天
对照	—	29.26 ± 0.93	33.87 ± 1.32
模型	—	30.44 ± 1.15	38.68 ± 3.46 ^{##}
5-Fu	0.02	29.26 ± 2.12	34.96 ± 2.79 ^{**}
SEEA	15	29.81 ± 1.17	36.47 ± 2.63
	30	30.19 ± 0.88	35.76 ± 2.72 [*]
	60	30.41 ± 2.15	37.34 ± 1.90

与对照组比较：^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较：^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ 。
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

3.3 SEEA 对 H22 荷瘤小鼠抑瘤率及脏器指数的影响

结果见表 2，SEEA 可有效抑制 H22 肿瘤生长，表现出明确的体内抗肝癌活性。与模型组相比，5-Fu 组肿瘤质量极显著性降低 ($P < 0.01$)，SEEA 中剂量组肿瘤质量显著性降低 ($P < 0.05$)。

与对照组相比，模型组脾脏指数显著升高 ($P <$

表 2 SEEA 对 H22 荷瘤小鼠抑瘤率测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Tumor inhibition rate determination results of SEEA on H22 tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肿瘤质量/g	抑瘤率/%	脾脏指数/(mg·g ⁻¹)	胸腺指数/(mg·g ⁻¹)
对照	—	—	—	0.42 ± 0.11	0.42 ± 0.11
模型	—	1.675 0 ± 0.673 4	—	0.73 ± 0.09 ^{##}	0.23 ± 0.08 ^{##}
5-Fu	0.02	0.512 0 ± 0.161 3 ^{**}	69.43	0.53 ± 0.15 [*]	0.23 ± 0.07
SEEA	15	1.383 0 ± 0.754 0	17.43	0.59 ± 0.24	0.26 ± 0.06
	30	0.849 2 ± 0.398 2 [*]	49.30	0.46 ± 0.12 ^{**}	0.28 ± 0.09
	60	1.335 5 ± 0.690 0	20.27	0.43 ± 0.09 ^{**}	0.24 ± 0.08

与对照组比较：^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较：^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ 。
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

0.01), 表明 H22 肝癌细胞接种造模成功, 荷瘤状态下小鼠免疫系统紊乱, 出现脾脏代偿性增生, 提示肿瘤负荷明显损伤小鼠免疫器官的结构与功能; 与模型组相比, 5-Fu 组、SEEA 中、高剂量组脾脏指数均显著降低 ($P < 0.01$)。与对照组相比, 模型组的胸腺指数显著下降 ($P < 0.05, 0.01$); 与模型组相比, SEEA 各剂量组胸腺指数均有上升, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3.4 SEEA 对 H22 荷瘤小鼠瘤体积的影响

结果如图 1 所示, 随干预时间延长, 各组小鼠肿瘤体积均呈逐渐上升趋势, 其中模型组肿瘤体积增长最为迅速。与模型组相比, 5-Fu 组及 SEEA 各给药组肿瘤体积增长均受到抑制; 抑制效果以 5-Fu 组最为显著, SEEA 中剂量组次之。上述结果提示, SEEA 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长具有抑制作用, 呈现一定的抗肝癌活性。

3.5 SEEA 对小鼠血清炎症因子 IL-2、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 含量的影响

结果见表 3, 与对照组相比, 模型组小鼠中血

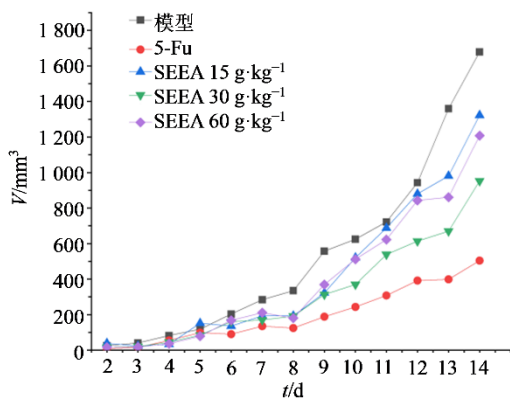


图 1 SEEA 对 H22 肝癌荷瘤小鼠肿瘤体积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Effect of SEEA on tumor volume in H22 hepatoma-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表 3 各组小鼠血清中 IL-2、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 含量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Levels of IL-2, IL-6, TNF- α , and IFN- γ in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IL-2/(pg·mL ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	IFN- γ /(pg·mL ⁻¹)
对照	—	661.38 ± 40.28	237.06 ± 11.68	61.33 ± 11.56	551.10 ± 51.73
模型	—	568.15 ± 77.31 ^{##}	194.04 ± 27.80 ^{##}	83.65 ± 7.89 ^{##}	780.33 ± 67.73 ^{##}
5-Fu	0.02	649.83 ± 49.20 ^{**}	237.14 ± 19.28 ^{**}	70.56 ± 10.38 ^{**}	651.28 ± 63.92 ^{**}
SEEA	15	620.77 ± 62.78 [*]	248.34 ± 14.48 ^{**}	78.08 ± 7.38	698.03 ± 47.01 ^{**}
	30	642.44 ± 49.20 ^{**}	236.72 ± 21.99 ^{**}	68.01 ± 9.59 ^{**}	658.65 ± 37.31 ^{**}
	60	635.76 ± 61.35 [*]	234.43 ± 18.50 ^{**}	71.34 ± 7.90 ^{**}	659.92 ± 25.08 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ 。

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

清 IL-2、TNF- α 含量显著降低, IL-6、IFN- γ 含量显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, SEEA 中、高剂量组血清 IL-2、TNF- α 含量显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), IL-6、IFN- γ 含量显著降低 ($P < 0.01$), 其中中剂量组效果最佳。

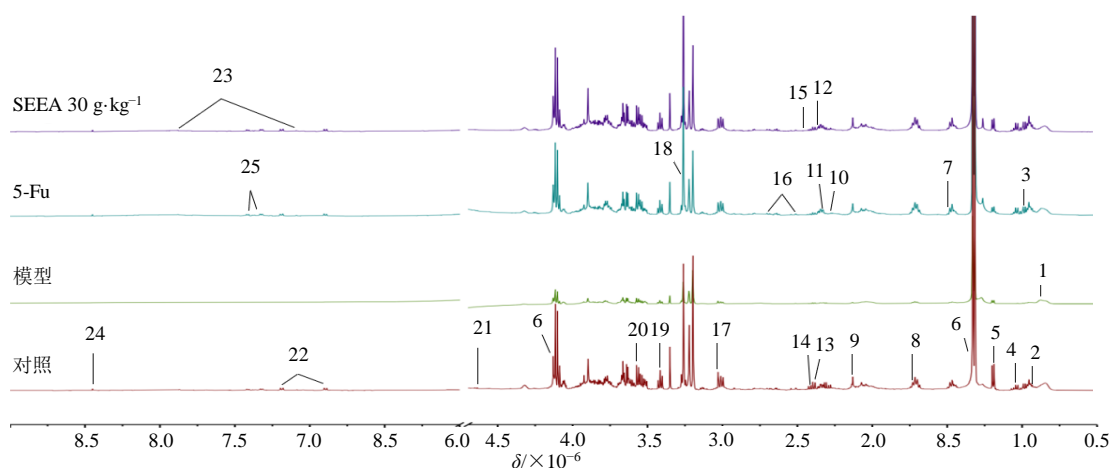
3.6 ¹H-NMR 图谱的指认与分析

各组小鼠血清中的 ¹H-NMR 图谱如图 2 所示。通过化学位移、耦合常数等核磁数据分析, 结合 HMDB (<https://hmdb.ca/>) 数据库以及 Chenomx NMR suite (Chenomx Inc., Edmonton, AB, Canada) 软件分析, 共指认出 25 个内源性代谢物, 见表 4。

3.7 血清差异代谢物的筛选

分别采用 PCA、OPLS-DA 对每组 ¹H-NMR 数据进行多元统计分析。分析图中每个点代表一个独立样本, 不同颜色的形状对应不同实验组别。由图 3 的 PCA 得分图可见, 受样本个体差异、内源干扰等因素影响, 不同组别的样本存在一定程度的交叉重叠, 提示在无监督模式下, 各组样本的整体谱学特征相似度较高。为此, 后续进一步采用 OPLS-DA 有监督模式, 以强化组间差异的提取与解析。

对对照组、模型组和 SEEA 中剂量组进行 OPLS-DA 处理, 结果如图 4-A、B、C 所示, 模型组与对照组、模型组与 5-Fu 组、模型组与 SEEA 中剂量组均能实现明显分离, 表明各组间小鼠血清代谢轮廓存在显著差异。为验证所构建 OPLS-DA 模型的可靠性, 对其进行 200 次置换检验, 结果如图 4-D、E、F 所示①模型组与对照组 $R^2 = 0.587, Q^2 = -0.396$; ②模型组与 5-Fu 组 $R^2 = 0.716, Q^2 = -0.247$; ③模型组与 SEEA 中剂量组 $R^2 = 0.650, Q^2 = -0.382$ 。置换检验中 Q^2 的回归线与 Y 轴交点均小于 0, 表明所构建的 OPLS-DA 模型能够真实反映样本数据特征, 未出现过拟合现象, 具备良好的解释能力与预测能力。上述 OPLS-DA 模型分析结果证实,

图 2 各组小鼠血清 $^1\text{H-NMR}$ 图谱Fig. 2 $^1\text{H-NMR}$ spectra of serum from mice in each group表 4 大鼠血清样本 $^1\text{H-NMR}$ 数据归属Table 4 $^1\text{H-NMR}$ data assignment of rat serum samples

序号	代谢物	部分基团	δ_{H}
1	低密度脂蛋白/极低密度脂蛋白 (LDL/VLDL, low-density lipoprotein/very low-density lipoprotein)	CH_3 , CH_2	0.87 (m)
2	亮氨酸 (leucine)	αCH , βCH_2 , γCH , δCH_3	0.96 (t, $J=5.6$ Hz)
3	异亮氨酸 (isoleucine)	αCH , βCH_2 , γCH_3 , δCH_3	0.94 (t, $J=5.8$ Hz)
4	缬氨酸 (valine)	αCH , βCH_2 , γCH_3	1.04 (d)
5	3-羟基丁酸 (3-hydroxybutyric acid)	CH_3	1.18 (d)
6	乳酸 (lactate)	αCH , βCH_3	1.33 (d), 4.12 (q)
7	丙氨酸 (alanine)	βCH_3	1.49 (d)
8	赖氨酸 (lysine)	αCH , βCH_2 , δCH_2	1.73 (m)
9	N-乙酰基糖蛋白 (N-acetylglycoprotein)	CH_3	2.14 (s)
10	丙酮 (acetone)	CH_3	2.24 (s)
11	乙酰乙酸 (acetoacetate)	CH_3 , CH_2	2.28 (s)
12	谷氨酸 (glutamate)	αCH , βCH_2 , γCH_2	2.35 (m)
13	丙酮酸 (pyruvate)	CH_3	2.38 (s)
14	琥珀酸 (succinate)	CH_2	2.41 (s)
15	谷氨酰胺 (glutamine)	αCH , βCH_2 , γCH_2	2.46 (m)
16	柠檬酸 (citrate)	CH_2	2.53 (d), 2.70 (d)
17	肌酸 (creatinine)	CH_3 , CH_2	3.02 (s)
18	氧化三甲胺 (trimethylamine N-oxide)	CH_3	3.26 (s)
19	牛磺酸 (taurine)	CH_2	3.41 (t) (t, $J=6.6$ Hz)
20	甘氨酸 (glycine)	CH_2	3.57 (s)
21	β -葡萄糖 (β -glucose)	C1H , C2H , C3H , C4H , C5H , C6H_2	4.66 (d)
22	酪氨酸 (tyrosine)	αCH , βCH_2 , εCH , δCH	6.91 (d), 7.20 (d)
23	组氨酸 (histidine)	αCH , βCH_2	7.09 (s), 7.85 (s)
24	苯丙氨酸 (phenylalanine)	αCH , βCH_2 , CH	8.46 (s)
25	甲酸 (formate)	CHO	7.32 (m), 7.42 (m)

s-单峰; d-双重峰; t-三重峰; q-四重峰; m-多重峰。

s-singlet; d-doublet, t-triplet; q-quartet; m-multiplet.

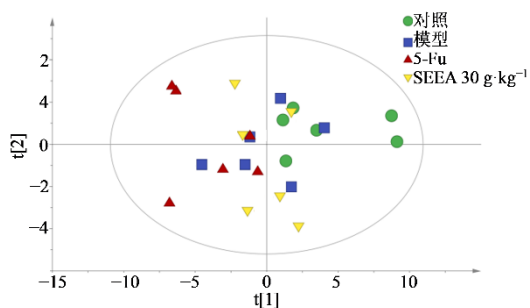
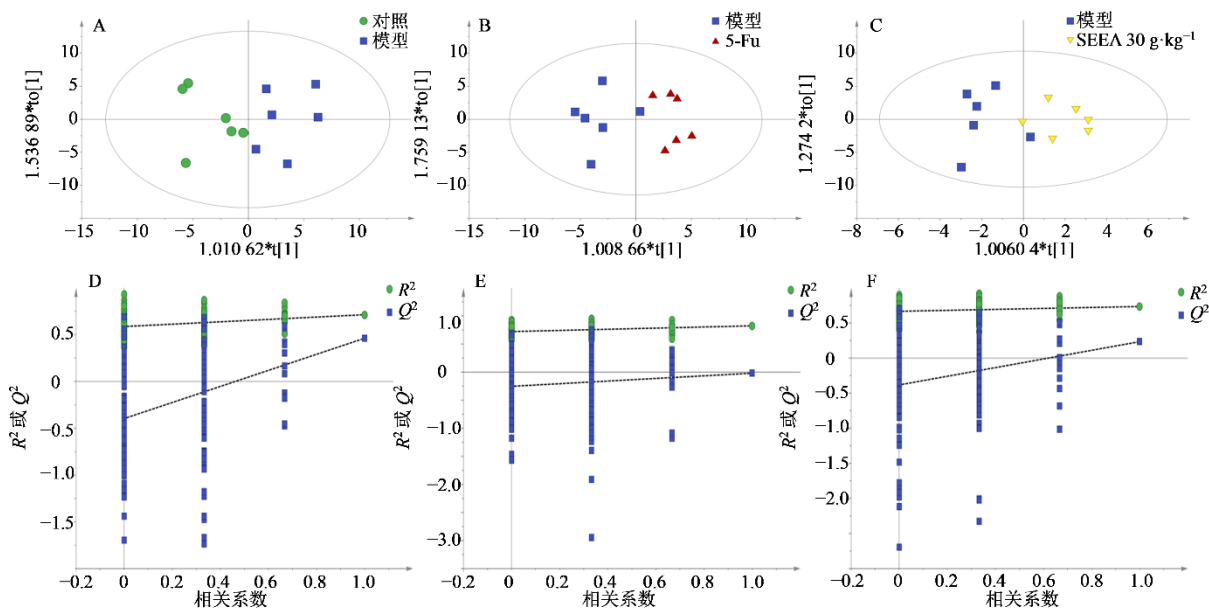


图 3 PCA 得分图

Fig. 3 PCA score plots



A、D-模型组 vs 对照组；B、E-模型组 vs 5-Fu 组；C、F-SEEA 中剂量组 vs 模型组。

A, D-model group vs control group; B, E-model group vs 5-Fu group; C, F-SEEA medium dose group vs model group.

图 4 OPLS-DA 得分图和置换验证图

Fig. 4 OPLS-DA score plot and validation plot

表 5 凹叶景天抗肝癌的相关差异代谢物

Table 5 Anti-liver-cancer related differential metabolites of *S. emarginatum*

序号	代谢物	化学位移	VIP 值	P 值
1	LDL/VLDL	0.87(m)	1.67	0.001 1
2	乙酰乙酸	2.28(s)	1.55	0.000 6
3	琥珀酸	2.41(s)	1.36	0.000 8
4	亮氨酸	0.96 (t, J=5.6 Hz)	1.02	0.006 7
5	肌酸	3.02 (s)	1.02	0.003 7

个差异代谢物分别导入 Metabo Analyst 5.0 进行通路分析，筛选潜在代谢通路。代谢通路气泡图显示其主要涉及的通路为丁酸代谢 (butanoate metabolism) 和三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle)。结果如图 5、表 6 所示。

模型组与对照组、5-Fu 组、SEEA 中剂量组之间存在显著代谢差异，提示小鼠经给药干预后，体内代谢水平发生了明显改变。

基于上述分析，以 OPLS-DA 模型中 VIP>1 及方差检验 P<0.05 作为差异代谢物的筛选标准，对小鼠血清中显著差异代谢物进行筛选。筛选结果如表 5 所示，共获得 5 个显著差异代谢物，分别为 LDL/VLDL、乙酰乙酸、琥珀酸、亮氨酸及肌酸。

3.8 代谢通路的富集分析

为了进一步分析差异代谢物，将筛选得到的 5

3.9 代谢物与抗肝癌相关靶点的筛选

通过 Swiss Target Prediction 数据库筛选得到的 5 个代谢物，共对应 33 个靶点，各代谢物所对应的靶点见表 7。将上述 33 个靶点与前期网络药理学研究中获得的 140 个抗肝癌靶点取交集，最终确定凹

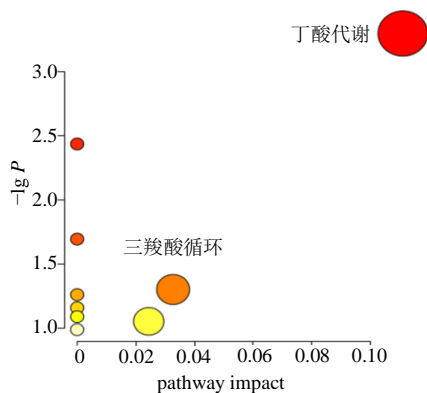


图 5 差异代谢物的通路富集分析

Fig. 5 Pathway enrichment analysis of differential metabolites

表 6 MetaboAnalyst 代谢通路分析结果

Table 6 Results of metabolic pathway analysis by

MetaboAnalyst

序号	代谢通路名称	P	-lg P	Impact
1	丁酸代谢	0.000 502	3.298 7	0.111 11
2	三羧酸循环	0.049 881	1.302 1	0.032 73

叶景天发挥抗肝癌协同效应的关键靶点为纤溶酶原 (PLG)。

3.10 凹叶景天抗肝癌 Q-Markers 筛选

将 PLG 协同效应靶点与本团队前期网络药理学研究成果^[10]中已明确的凹叶景天活性部位抗肝癌的主要成分及靶点的化合物相匹配, 结果发现筛选到的活性化合物中金腰乙素、木犀草素、山柰素、

表 7 代谢物靶点筛选结果

Table 7 Screening results of metabolite targets

代谢物	靶点
LDL/VLDL	—
乙酰乙酸	HDAC3、EGLN1
琥珀酸	GABRA2、GABRR1
亮氨酸	CACNA2D1、ADORA3、SLC1A1、GRM4、GRM5、GRM8、GRM1、GRM7、GABBR2、GRIK1、LTA4H、GRIK2、OAT、GRIA1、GABRR1、GRM3、GRM6、GRM2、GRIA4、GABRA1、SLC6A11、SLC6A13、SLC1A2、PLG、GRIK3、GRIA2、SLC6A12、GRIK5、BBOX1
肌酸	EGLN1、HDAC3

芹菜素、异鼠李素、苜蓿素、白杨素这 7 种活性化合物均能与 PLG 靶点结合, 初步筛选为凹叶景天抗肝癌潜在 Q-Markers。

4 讨论

本研究以 H22 肝癌细胞株构建昆明小鼠皮下移植瘤模型, 系统评价 SEEA 的体内抗肝癌活性, 并对其作用机制展开初步探究。小鼠皮下移植瘤模型因造模周期短、操作简便、成瘤率高、肿瘤生长趋势均一、瘤体位置表浅且便于动态观测等优势, 成为抗肿瘤药物体内药效评价的经典模型^[13]。本研究将 H22 肝癌细胞经昆明小鼠腹腔传代获得腹水瘤后, 接种于小鼠右侧腋部皮下可稳定成瘤, 为实验提供了可靠的动物模型基础; 小鼠接种 H22 细胞后第 2 天, 接种部位可触及黄豆大小硬结, 提示荷瘤模型构建成功。连续给药 14 d 后, SEEA 低、中、高剂量组对 H22 荷瘤小鼠均呈现不同程度的抑瘤作用, 其中中剂量组抑瘤率达 49.30%, 高于中药抗肿瘤有效评价标准 (抑瘤率 > 30%)^[14], 证实其具

有明确的体内抗肝癌活性。与模型组相比, 各给药组肿瘤体积增长均受到显著抑制; 从一般体征、肿瘤生长及抑瘤率等多维度验证, SEEA 对 H22 荷瘤小鼠具有显著的抑瘤效果。

抗肿瘤药物在发挥抑瘤作用的同时, 往往会影响机体免疫器官及免疫功能, 胸腺指数与脾脏指数是反映机体免疫状态的重要指标^[15]。其中胸腺作为 T 淋巴细胞分化、成熟的中枢免疫器官, 在维持机体免疫平衡与自身稳定中发挥关键作用; 脾脏为机体最大的外周免疫器官, 参与细胞免疫与体液免疫应答, 是机体发挥抗肿瘤免疫效应的重要场所, 因此二者可作为评价药物对机体免疫功能影响的核心指标^[16-17]。本实验结果显示, 与对照组相比, 模型组小鼠脾脏指数显著升高、胸腺指数明显降低, 提示荷瘤状态可引发小鼠免疫器官功能紊乱^[13]; 而与模型组相比, SEEA 各给药组能显著降低异常升高的脾脏指数, 同时上调胸腺指数, 表明 SEEA 可有效改善荷瘤小鼠免疫器官萎缩及功能异常, 对免

疫器官具有保护作用，能够增强机体免疫功能。由此推测，调节机体免疫功能、改善免疫器官损伤，是凹叶景天发挥抗肝癌作用的重要机制之一。

本研究结果显示，H22 荷瘤小鼠模型组呈现典型的炎症-免疫失衡状态：促炎因子 IL-6 显著升高，IFN- γ 水平异常增高，而免疫激活与效应因子 IL-2、TNF- α 显著降低，这与肿瘤微环境中炎症驱动肿瘤生长、免疫功能受抑的病理特征高度一致。SEEA 干预后，中、高剂量组可显著逆转上述因子紊乱，表现为 IL-2、TNF- α 水平回升，IL-6、IFN- γ 水平下降，且以中剂量效果最优。该调控效应与图 1 中肿瘤生长抑制结果直接相关：SEEA 通过降低 IL-6 水平，阻断其介导的 STAT3 促增殖信号；同时下调异常升高的 IFN- γ ，减轻其诱导的免疫耗竭。另一方面，SEEA 可恢复 IL-2 与 TNF- α 表达，重新激活效应 T 细胞与 NK 细胞的抗肿瘤免疫应答，最终实现抑制肿瘤生长、改善荷瘤小鼠免疫功能的双重作用。上述结果提示，SEEA 可能通过“抗炎-免疫激活”双重途径发挥抗肝癌活性，为其后续临床应用提供了初步的药理机制依据。

代谢组学通过分析生物体内小分子代谢物的变化特征筛选疾病相关潜在标志物，可为临床疾病的早期诊断提供科学依据^[18]，其系统性、整体性的研究特点，能从代谢网络的微观变化反映机体的整体功能状态，与中医“整体观念”高度契合^[19-20]。本研究采用 ¹H-NMR 技术对小鼠血清进行代谢组学分析，筛选潜在差异代谢物，从代谢调控角度进一步探究凹叶景天治疗肝癌的作用机制，共鉴定出 5 个差异代谢物，证实凹叶景天可通过回调该类代谢物水平，调控丁酸代谢、三羧酸循环等核心代谢途径，进而发挥抗肝癌功效。

本研究发现，差异代谢物乙酰乙酸（c00164）与琥珀酸（c00042）共同参与丁酸代谢通路。丁酸是肠道微生物群发酵膳食纤维产生的短链脂肪酸之一，可由碳水化合物经 α -酮戊二酸与琥珀酸生成，已有研究证实，丁酸盐可通过补充肠道防御屏障相关成分，抑制炎症细胞因子生成并减少氧化应激^[21]，还可通过代谢免疫调节、维护肠道屏障功能稳定，阻断炎症反应并调控免疫功能，参与代谢相关脂肪性肝病的发生发展^[22-24]。短链脂肪酸与肠道微生物代谢密切相关，不仅能为宿主代谢提供能量，还是维持机体健康的重要信息介质，在肠道内可发挥维持水电解质平衡、调节肠道菌群结构、改

善肠道功能、抗炎、抗肿瘤及调控基因表达等多种生物学作用^[25-26]。已有研究证实，丁酸可通过调控肠道免疫、增强屏障功能、抑制炎症反应发挥抗炎与抗肿瘤作用，且丁酸代谢与三羧酸循环密切相关^[27]。据此推测，凹叶景天可通过回调乙酰乙酸、琥珀酸水平，调控丁酸代谢及三羧酸循环，进而发挥抗炎、抗肝癌效应。三羧酸循环是机体能量代谢的关键途径，其代谢异常是能量代谢紊乱的重要标志。本研究结果显示，H22 荷瘤小鼠存在三羧酸循环紊乱，机体能量代谢异常，而 SEEA 干预后，该代谢紊乱状态得到明显改善，提示其可通过调控能量代谢发挥抗肝癌作用。

此外，本研究将差异代谢物靶点与前期网络药理学筛选的抗肝癌靶点进行交集分析，发现 PLG 为凹叶景天抗肝癌的协同效应靶点。PLG 与特定细胞表面或细胞外基质受体结合后，可降解细胞外基质，并激活多种基质相关生长因子与蛋白酶，进而促进肿瘤细胞脱离细胞外基质后的存活、浸润与转移^[28]。靶点匹配结果显示，凹叶景天中金腰乙素、木犀草素、山柰素、芹菜素、异鼠李素、苜蓿素、白杨素等抗肝癌活性化合物均能与 PLG 靶点结合，提示该类化合物可能为凹叶景天抗肝癌的潜在 Q-Markers，与前期网络药理学筛选结果一致。需说明的是，金腰乙素目前缺乏明确的抗肿瘤药效学文献与实验数据支撑，虽其可与 PLG 靶点结合，但 Q-Markers 的筛选需同时满足与药效直接相关、含量相对稳定、检测方法可靠 3 大核心条件。鉴于金腰乙素的抗肝癌药效证据不足，本研究暂未将其列入凹叶景天抗肝癌 Q-Markers 范畴，后续需通过体外细胞实验、体内动物实验进一步验证其抗肿瘤活性，若能证实其具有明确的抗肝癌作用，可将其纳入 Q-Markers 体系，以保证筛选结果的科学性与严谨性。

本研究筛选的其余差异代谢物也与肝癌的发生发展密切相关：LDL/VLDL 代谢异常是肝癌发生发展的重要诱因，已有研究证实，高 LDL/VLDL 水平可通过促进脂质过氧化、诱导肝细胞氧化应激损伤，激活磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 等肝癌相关信号通路，加速肝癌细胞的增殖与转移^[29-30]，本研究中 SEEA 可有效回调 LDL/VLDL 水平，推测其可通过调节脂质代谢紊乱、减轻肝细胞损伤发挥抗肝癌作用；亮氨酸作为人体必需氨基酸，其代谢失衡在肿瘤代谢重编程中发挥关键作用，肝癌细胞可通过异常激活亮氨酸代

谢相关酶类, 增强自身氨基酸供给, 满足肿瘤快速增殖的能量需求^[31], SEEA 对亮氨酸水平的回调作用, 可能通过干扰肝癌细胞的氨基酸代谢重编程抑制肿瘤细胞增殖; 肌酸是机体能量代谢的重要载体, 可维持细胞内 ATP 稳态, 肝癌细胞的快速增殖需要大量能量供应, 易导致肌酸代谢异常升高^[32], 本研究中 SEEA 可下调肌酸水平, 推测其可通过破坏肝癌细胞的能量代谢稳态, 抑制肿瘤细胞的生长与存活, 这与已报道的中药通过调控肿瘤能量代谢发挥抗肿瘤作用的机制相一致^[33]。

本研究仅通过 ¹H-NMR 代谢组学技术探索凹叶景天抗肝癌的作用机制及 Q-Markers, 尚未结合转录组学、蛋白质组学等多组学技术, 难以全面揭示其抗肝癌的多层面调控机制, 也无法明确代谢物变化与基因、蛋白质表达之间的关联; 其次, 研究仅聚焦于小鼠血清中的内源性代谢物, 未检测肝脏组织、肠道内容物等其他样本类型的代谢变化, 无法全面反映凹叶景天干预后机体的整体代谢调控特征; 此外, Q-Markers 的初步筛选仅基于靶点匹配关系, 缺乏后续的体内外药效验证与含量测定分析。后续研究需针对性弥补上述局限性, 结合多组学技术、扩大样本检测范围、完善 Q-Markers 的验证体系, 进一步优化凹叶景天抗肝癌 Q-Markers 体系, 深入阐明其作用机制。

综上所述, 本研究以 H22 肝癌细胞株构建昆明小鼠皮下移植瘤模型, 结合免疫功能检测、¹H-NMR 代谢组学分析及网络药理学验证, 从多维度系统探究 SEEA 的体内抗肝癌效应及潜在作用机制。结果证实, SEEA 中剂量组抑瘤率达 49.30%, 可有效抑制荷瘤小鼠肿瘤体积增长; 同时其能改善荷瘤状态下小鼠的免疫器官功能紊乱, 通过调节胸腺指数、脾脏指数保护免疫器官、增强机体免疫功能, 这是其发挥抑瘤作用的重要机制。从代谢组学层面而言, 凹叶景天可通过回调 LDL/VLDL、乙酰乙酸、琥珀酸、亮氨酸、肌酸 5 个差异代谢物水平, 主要调控丁酸代谢、三羧酸循环两条核心代谢通路, 改善机体代谢紊乱, 进而发挥抗肝癌作用; 结合靶点匹配结果, 确定木犀草素、山柰素、芹菜素、异鼠李素、苜蓿素、白杨素为凹叶景天抗肝癌的潜在 Q-Markers。本研究从整体动物、免疫功能及代谢调控多维度阐释了凹叶景天抗肝癌的科学内涵, 为其临床合理应用、质量控制及进一步开发利用提供了坚实的实验依据与理论支撑。后续研究需弥补本实验

的局限性, 深入阐明凹叶景天多成分、多靶点、多通路协同抗肝癌的完整机制, 进一步优化 Q-Markers 体系, 为其产业化开发与临床转化奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国抗癌协会肝癌专业委员会. 中国肝癌多学科综合治疗专家共识 (2025 年版) [J]. 临床肝胆病杂志, 2025, 41(7): 1279-1286.
Chinese Society of Liver Cancer, Chinese AntiCancer Association. Chinese expert consensus on multidisciplinary treatment of liver cancer (2025) [J]. J Clin Hepatol, 2025, 41(7): 1279-1286.
- [2] Chan S L, Sun H C, Xu Y, et al. The Lancet Commission on addressing the global hepatocellular carcinoma burden: Comprehensive strategies from prevention to treatment [J]. Lancet, 2025, 406(10504): 731-778.
- [3] 赵晴雪, 宋高臣, 单荣, 等. 中药多糖治疗肝癌的作用机制研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(5): 1321-1326.
Zhao Q X, Song G C, Shan R, et al. Research progress on mechanism of traditional Chinese medicine polysaccharides in treatment of hepatocellular carcinoma [J]. Drugs Clin, 2025, 40(5): 1321-1326.
- [4] Zhou Y, Wang Z, Ren S, et al. Mechanism of action of protopanaxadiol ginsenosides on hepatocellular carcinoma and network pharmacological analysis [J]. Chin Herb Med, 2024, 16(4): 548-557.
- [5] 冯瑜, 张倩. 肝癌免疫治疗的研究进展 [J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2025, 9(1): 23-26.
Feng Y, Zhang Q. Research progress of immunotherapy for liver cancer [J]. Mod Med Health Res Electron J, 2025, 9(1): 23-26.
- [6] Zheng S Z, Chan S W, Liu F, et al. Hepatocellular carcinoma: Current drug therapeutic status, advances and challenges [J]. Cancers, 2024, 16(8): 1582.
- [7] Xiong Z, Sui X D, Bai Y, et al. Hua Zheng San Ji Fang suppresses liver cancer progression by inhibiting TYRO3 expression via the ERK signaling pathway [J]. Phytomedicine, 2025, 139: 156497.
- [8] Qiu Q, Jiang L J, Zhen H S, et al. Promotion of HepG2 cell apoptosis by *Sedum emarginatum* Migo and the mechanism of action [J]. BMC Complement Med Ther, 2022, 22(1): 31.
- [9] 陈雨洁, 林亲雄, 万定荣, 等. 景天属三种植物药不同提取部位及总黄酮抗肿瘤作用研究 [J]. 中央民族大学学报 (自然科学版), 2011, 20(2): 88-92.
Chen Y J, Lin Q X, Wan D R, et al. Study on the anti-tumor

- activities of the different extract fractions and total flavones of the three *Sedum* plant drugs [J]. *J Cent Univ Natl Nat Sci Ed*, 2011, 20(2): 88-92.
- [10] 刘晓芳, 丘琴, 覃芳芳, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 和网络药理学结合分子对接的凹叶景天抗肝癌质量标志物 (Q-Marker) 研究 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(10): 2210-2226.
- Liu X F, Qiu Q, Qin F F, et al. Study on anti-liver cancer quality markers (Q-Marker) of *Sedum emarginatum* based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and network pharmacology combined with molecular docking [J]. *Drug Eval Res*, 2024, 47(10): 2210-2226.
- [11] 李怀永, 刘莉莉, 娄柏松, 等. 基于蛋白质组学和生物信息学研究莪术油注射液联合热疗通过改变细胞周期的进程增强肺癌的放疗敏感性 [J]. *药物评价研究*, 2026, 49(1): 48-58.
- Li H Y, Liu L L, Lou B S, et al. Zedoary Turmeric Oil Injection combined with hyperthermia enhances radiosensitivity in lung cancer by modulating cell cycle progression based on proteomics and bioinformatics research [J]. *Drug Eval Res*, 2026, 49(1): 48-58.
- [12] 陈莉媚, 金彤, 宁春桃, 等. 加味四君子汤对 H22 肝癌小鼠的抑瘤作用和免疫功能的影响 [J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39(2): 241-248.
- Chen L M, Jin T, Ning C T, et al. Anti-tumor and immunomodulating effect of Jiawei Sijunzi decoction in mice bearing hepatoma H22 tumor [J]. *J South Med Univ*, 2019, 39(2): 241-248.
- [13] 常征, 王蓉, 李洪潮, 等. 凹叶景天总黄酮止血和耐缺氧作用研究 [J]. *文山学院学报*, 2016, 29(6): 4-7.
- Chang Z, Wang R, Li H C, et al. Hemostasis and anti-hypoxic effects of *Sedum emarginatum* migo [J]. *J Wenshan Teach Coll*, 2016, 29(6): 4-7.
- [14] 毛庆琳. 消瘤祛毒饮对 H22 肝癌小鼠瘤重、胸腺指数、脾指数及淋巴细胞转化功能的影响 [D]. 吉林: 吉林大学, 2013.
- Mao Q L. Effects of Xialiu Qudu Yin on tumor weight, thymus index, spleen index and lymphocyte transformation function in H22 hepatoma-bearing mice [D]. Jilin: Jilin University, 2013.
- [15] 廖子君. 现代肿瘤治疗药理学 [M]. 北京: 世界图书出版公司北京分公司, 2002: 784.
- Liao Z J. *Modern Antineoplastic Pharmacotherapy*. [M]. Beijing: World Publishing Corporation Beijing Branch, 2002:784.
- [16] 洪阁, 沈秀, 刘培勋, 等. 槐属植物生物碱衍生物施普睿达抗肿瘤作用的研究 [J]. *天津药学*, 2006, 18(6): 4-6.
- Hong G, Shen X, Liu P X, et al. Study on antitumor activity of natural alkaloid derivative Sprita from *Sophora Linn* [J]. *Tianjin Pharm*, 2006, 18(6): 4-6.
- [17] 黄桂红, 邓航, 付翔, 等. 鬼针草醇提物对糖尿病小鼠糖耐量及胸腺、脾脏指数的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(8): 183-186.
- Huang G H, Deng H, Fu X, et al. Effects of alcohol extracts of *Bidens bipinnata* on oral glucose tolerance and index of thymus, spleen in diabetic mice [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2012, 18(8): 183-186.
- [18] 魏玉玲, 赵慧亮, 田俊生, 等. 基于核磁代谢组学的酒炙韭菜子温肾助阳作用机制研究 [J]. *中药药理与临床*, 2022, 38(3): 116-121.
- Wei Y L, Zhao H L, Tian J S, et al. Mechanism of Wine-processed *allii tuberosi semen* on Wenshen (温肾) and Zhuyang (助阳) Based on ¹H-NMR Metabonomics [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2022, 38(3): 116-121.
- [19] 徐杨, 何芷绮, 刘晓凤, 等. 代谢组学在中药复方制剂领域的研究进展及面临的挑战 [J]. *中草药*, 2024, 55(4): 1354-1364.
- Xu Y, He Z Q, Liu X F, et al. Progress and challenges of metabolomics in field of traditional Chinese medicine compound preparations [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(4): 1354-1364.
- [20] 刘慧敏, 张悦, 王佳艺, 等. 代谢组学前沿技术进展及在中药现代研究中的应用 [J]. *中草药*, 2024, 55(3): 969-977.
- Liu H M, Zhang Y, Wang J Y, et al. Advances in frontier technologies in metabolomics and their application in modern research of Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(3): 969-977.
- [21] 张金英, 周宁, 王永祥, 等. 尿液代谢组学探究葶苈大枣泻肺汤对哮喘大鼠的调节作用 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(12): 3312-3319.
- Zhang J Y, Zhou N, Wang Y X, et al. Regulatory effect of Tingli Dazao Xiefei Decoction on asthmatic rats by urine metabolomics [J]. *China J Chin Mater Med*, 2024, 49(12): 3312-3319.
- [22] Heimann E, Nyman M, Degerman E. Propionic acid and butyric acid inhibit lipolysis and de novo lipogenesis and increase insulin-stimulated glucose uptake in primary rat adipocytes [J]. *Adipocyte*, 2014, 4(2): 81-88.
- [23] Rau M, Rehman A, Dittrich M, et al. Fecal SCFAs and SCFA-producing bacteria in gut microbiome of human NAFLD as a putative link to systemic T-cell activation and advanced disease [J]. *United European Gastroenterol J*, 2018, 6(10): 1496-1507.
- [24] Kim C H. Complex regulatory effects of gut microbial

- short-chain fatty acids on immune tolerance and autoimmunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2023, 20(4): 341-350.
- [25] Dalile B, Van Oudenhove L, Vervliet B, et al. The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(8): 461-478.
- [26] Sowah S A, Riedl L, Damms-Machado A, et al. Effects of weight-loss interventions on short-chain fatty acid concentrations in blood and feces of adults: A systematic review [J]. *Adv Nutr*, 2019, 10(4): 673-684.
- [27] Parada V D, De la Fuente M K, Landskron G, et al. Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 277.
- [28] Mills E, O'Neill L A J. Succinate: A metabolic signal in inflammation [J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24(5): 313-320.
- [29] 李晓斌, 刘博文, 胡世平. 脂质代谢重编程与肝细胞癌发生发展研究进展 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2024, 27(6): 957-960.
- Li X B, Liu B W, Hu S P. Lipid metabolic reprogramming in the carcinogenesis of patients with hepatocellular carcinoma [J]. *J Pract Hepatol*, 2024, 27(6): 957-960.
- [30] 邢路超, 苑建磊. 肝细胞癌代谢重编程研究进展 [J]. *临床荟萃*, 2025, 40(12): 1136-1141.
- Xing L C, Yuan J L. Research progress of metabolic reprogramming in hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Focus*, 2025, 40(12): 1136-1141.
- [31] 张仙宏, 张思雨, 李乐. 氨基酸代谢重编程在肿瘤发生发展中的作用 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2023, 39(2): 174-188.
- Zhang X H, Zhang S Y, Li L. Amino acid metabolic reprogramming in tumorigenesis and development [J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2023, 39(2): 174-188.
- [32] 吴晗. 脂代谢在肝癌营养应激中的作用和调控机制 [D]. 上海: 第二军医大学, 2014.
- Wu H. Role and regulatory mechanism of lipid metabolism in nutritional stress of hepatocellular carcinoma [D]. Shanghai: Naval Medical University, 2014.
- [33] 方颖. 去泛素化酶 UCH37 对肝癌复发的影响及其分子机制研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2012.
- Fang Y. The Effect of deubiquitinase UCH37 on hepatocellular carcinoma recurrence and its molecular mechanism [D]. Shanghai: Fudan University, 2012.

[责任编辑 孙英杰]