

栝楼抗食管鳞癌作用的网络药理学分析及实验验证

马圣明, 娄欣雨, 翁少亭, 郝杰, 蒋志惠, 张坤朋*

安阳工学院 河南省兽用生物制品研发与应用国际联合实验室, 安阳 455000

摘要: 利用网络药理学方法及体外实验验证分析栝楼抗人食管鳞癌的作用。构建“化合物-靶标-食管鳞癌”网络, 筛选栝楼抗人食管癌主要药理活性成分、作用靶点及潜在作用机制; 建立栝楼提取物体外干预人食管癌 TE-1 细胞模型, 采用 CCK8 法和平板克隆法检测细胞增殖活性, 用细胞划痕法检测细胞迁移能力, 通过流式细胞术和 Western blot 检测细胞凋亡。栝楼抗人食管鳞癌作用的主要活性成分包括香叶木素、羟基茺花素、葫芦素 B 等, 涉及 BCL2、NR3C1、STAT3、PGR、PTGS2 等靶点, 参与细胞增殖活性调节、细胞程序性反应、脂质代谢等多个生物学过程; 栝楼提取物体外能有效抑制 TE-1 的增殖活性和迁移能力, 并促进细胞发生凋亡。栝楼抗食管鳞癌作用是基于多成分、多靶点、多途径的协同复杂作用; 栝楼提取物可能以 BCL2 为药物靶点, 通过内源性途径诱导 TE-1 细胞发生早期凋亡。

关键词: 栝楼; 网络药理学; 食管鳞癌; 活性成分; 靶点

中图分类号: R739.5 文献标识码: A

Network pharmacology analysis and experimental verification for anti-esophageal squamous cell carcinoma effects of *Trichosanthes kirilowii* Maxim.

MA Sheng-ming, LOU Xin-yu,

WENG Shao-ting, HAO Jie, JIANG Zhi-hui, ZHANG Kun-peng*

Henan Joint International Research Laboratory of Veterinary Biologics Research and Application, Anyang

Institute of Technology, Anyang 455000, China

Abstract: The aim of this study was to analyse the anti-esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) effects of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. (TkM) using network pharmacology and experimental verification. A 'compound-target-ESCC' network was constructed to screen the main active components, targets and potential mechanisms of action of TkM anti-ESCC. The proliferation of human esophageal carcinoma TE-1 cell treated with TkM extract was detected by CCK8 and plate cloning, the migration of cells was detected by cell scratching, and the apoptosis of cells was detected by flow cytometry and Western blot. The main active components of TkM anti-ESCC action include diosmetin, hydroxygenkwanin, cucurbitacin B, etc., which are involved in the targets of BCL2, NR3C1, STAT3, PGR, and PTGS2, which are involved in several biological processes such as the regulation of cellular proliferative activity, cellular programmed response, and lipid metabolism. In addition, TkM effectively inhibited the proliferative activity and migration rate of TE-1 *in vitro* and promoted apoptosis. These findings suggest that the anti-ESCC effect of TkM is based on the synergistic and complex action of multiple components, targets and pathways. TkM may target BCL2 as a drug and induce early apoptosis in TE-1 cells through endogenous pathways.

Key words: *Trichosanthes kirilowii* Maxim.; network pharmacology; esophageal squamous cell carcinoma; active ingredient; targets

食管癌是严重威胁人类生命健康的常见恶性消化道肿瘤之一^[1]。食管鳞状细胞癌

(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和食管腺癌(esophageal adeno carcinoma, EAC)是食管癌最常见的两种病理学类型。在中国, 90%以上的食管癌病例为 ESCC。最新数据显示, 食管癌是中国第七大常见恶性肿瘤, 也是第五大癌症相关死亡原因^[2]。尽管食管癌的诊断和治疗已取得进展, 但预后仍然相对较差。目前的化疗药物虽在一定程度上可以有效缓解食管癌的病理进程, 但许多药物已开始产生抗癌耐药, 导致临床治疗效果不佳。因此, 迫切需要开发更为有效的药物或生物制剂来治疗食管癌。

天然植物来源的中药可通过多靶点、多途径作用于肿瘤细胞, 具有疗效显著、毒副作用小等优势。栝楼(*Trichosanthes kirilowii* Maxim., TkM)属于葫芦科栝楼属的多年生攀缘草本, 俗称瓜蒌、吊瓜。栝楼的果实、果皮、种子等部位均存在显著的药用价值。《本草纲目》记载: 瓜蒌“润肺燥、降火、治咳嗽、涤痰结、止消渴、利大便、消痈肿疮毒”。现代药理学研究表明, 栝楼作为一种天然植物来源的中药, 具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、免疫调节等多种药理活性^[3]。基于此, 利用网络药理学方法筛选栝楼的主要药理活性成分, 建立栝楼抗 ESCC 作用的“化合物-靶标-ESCC”网络, 探究栝楼抗 ESCC 的活性成分及潜在的作用机制, 选取 TE-1 细胞为体外研究模型, 探讨栝楼提取物体外抗 ESCC 作用, 为临床应用提供重要理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

栝楼果实提取物(批号: ZB2023016, 西安泽邦生物科技有限公司); ESCC 细胞株 TE-1、RPMI-1640 完全培养基(批号: CL-0231、PM150110, 武汉普诺赛生命科技有限公司); 特级新生牛血清(批号: E510004-0100, 生工生物工程(上海)股份有限公司); PAGE 凝胶快速制备试剂盒、三色预染蛋白 Marker 10~250 kDa(批号: PG113、WJ103, 上海雅酶生物医药科技有限公司); 增强型 CCK-8 试剂盒、细胞凋亡与坏死检测试剂盒、Western 及 IP 细胞裂解液、GAPDH Mouse Monoclonal Antibody、Bcl-2 Rabbit Polyclonal Antibody、Caspase 3 (active) Rabbit Monoclonal Antibody、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG(H+L)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)(批号: C0041、C1056、P0013、AF0006、AF0060、AF1150、A0216、A0208, 碧云天生物技术有限公司)。

仪器: MCO-18AIC 二氧化碳培养箱(日本 SANYO 公司); HH-2 数显恒温水浴锅(中国常州瑞华电器有限公司); 1300 SERIES A2 超净工作台(美国 Thermo 公司); Synergy H1 多功能酶标仪(美国 BioTek 公司); 4600SF 化学发光成像系统(中国 Tanon 公司)。

1.2 栝楼网络药理学分析

登录中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)(<https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>), 在线检索 TkM 的成分。根据口服利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug likeness, DL) ≥ 0.18 , 筛选具有潜在药用价值的活性成分及其相关靶点信息, 根据参考文献, 补充了

化学成分葫芦素 B。登录 Comparative Toxicogenomics Database 数据库 (<https://ctdbase.org/>)，检索 ESCC 疾病靶点。将获得的栝楼靶点和 ESCC 靶点输入 Bioinformatics&Systems Biology 数据库 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 进行映射获得交集靶点，并绘制韦恩图。将获得的交集靶点导入 STRING 在线数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 构建蛋白互作网络。将 PPI 网络数据导入 Cytoscape 3.8.0 软件中，借助“Network Analyzer”进行拓扑分析，根据度值排序选择核心靶点。将获得的关键靶点以文本形式输入 DAVID 在线数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)，进行 GO 和 KEGG 富集分析，利用 GraphPad Prism 9 绘制 GO 功能柱状图和 KEGG Pathway 气泡图。

1.3 细胞培养

常规方法复苏 TE-1 细胞于 6 cm 细胞培养皿中，待 8 h 后细胞贴壁后进行换液处理。待单层细胞生长至 80%融合后弃掉完全培养液，加入 3 mL PBS 清洗，加入 3 mL 胰酶后置于 37 °C、5%CO₂ 恒温培养箱中消化 2.5 min。消化完毕后迅速吸去胰酶溶液，加入 4 mL 1640 完全培养液，轻柔吹打混匀后加入适量 1640 完全培养液，吹打均匀后分装至 2~3 个 6 cm 细胞培养皿中，并置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中继续传代培养。

1.4 CCK8 法检测细胞增殖活性

用 DMSO 完全溶解栝楼果实提取物，配制成 50、100、200 和 400 mg/mL 的母液。取对数生长期状态良好的细胞，加入适量胰酶溶液消化后按增强型 CCK-8 试剂盒 (C0041) 说明书制成细胞悬液。按每孔 100 μL 细胞悬液量接种于 96 孔细胞培养板中，置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中静置培养。待细胞生长至 70%~80%融合时，实验组分别接种 100 μL 含有不同药物浓度 TkM 果实提取物的细胞完全培养液，使其终浓度分别为 50、100、200 和 400 μg/mL，对照组用等体积 DMSO 处理，同时以无细胞仅含 100 μL 细胞完全培养液为空白组。细胞置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中连续培养 24 h 或 48 h 后，每孔加入 10 μL CCK8 溶液，混匀后置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中孵育 2 h 后取出，使用酶标仪测定 450 nm 波长处的吸光度 (A)，根据公式 (1) 计算细胞存活率 (R)。

$$R = (A_1 - A_3) / (A_2 - A_3) \times 100\% \quad (1)$$

式中， A_1 为实验组吸光度； A_2 为对照组吸光度； A_3 为空白组吸光度。

1.5 平板克隆

取对数生长期状态良好的细胞，加入适量胰酶溶液消化后制成细胞悬液，接种于 6 孔细胞培养板中，置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中静置培养。待细胞完全贴壁生长后，弃去细胞培养液，加入含有不同药物浓度的 TkM 完全培养液 2 mL，使其终浓度分别为 50、100、200

和 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，同时设立 DMSO 对照组。细胞静置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中连续培养 2 周，期间每日观察细胞生长状态，根据生长情况及时换液。待细胞形成明显单克隆时，用 PBS 洗涤 2 次，加入 4% 的甲醛溶液固定 15 min 后，用 0.1% 浓度的结晶紫染色 30 min，流水冲洗干燥后于显微镜下拍照，采用 Image J2x 软件分析计算细胞克隆数。

1.6 细胞划痕实验

取对数生长期状态良好的细胞，加入适量胰酶溶液消化后制成细胞悬液。按每孔 2 mL 细胞量接种于 6 孔细胞培养板中，置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中静置培养。待细胞生长至 60%~70% 融合时，使用 10 μL 移液枪枪头在皿底做“一”字形划痕，并弃去培养液。加入含有不同药物浓度的 TkM 完全培养液 2 mL，使其终浓度分别为 50、100、200 和 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，同时设立 DMSO 对照组，置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中静置培养 24 h，于显微镜下拍照记录细胞生长情况，采用 ImageJ2x 软件分析计算细胞迁移速率。

1.7 流式细胞术

取对数生长期状态良好的细胞，接种于 6 孔细胞培养板中，待细胞生长至 60%~70% 融合时，加入含有不同药物浓度的 TkM 完全培养液 2 mL，使其终浓度分别为 100、200 和 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，同时设立 DMSO 对照组。待细胞连续培养 48 h 后，按细胞凋亡与坏死检测试剂盒（C1056）说明书，制成细胞悬液于 1.5 mL 离心管中离心弃上清液，加入 1 mL 细胞染色缓冲液重悬，每管中均加入 5 μL Hoechst 染色液和 5 μL PI 染色液混匀。随后收集样品置于流式细胞仪中检测。

1.8 Western blot

使用 Western 及 IP 细胞裂解液裂解细胞样品，随后加入 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液置于 95 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中 10 min，蛋白样品置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。按 PAGE 凝胶快速制备试剂盒说明制备 PAGE 凝胶。细胞蛋白样品按 10 μL 体积上样，经 SDS-PAGE 电泳分离后，转移至 PVDF 膜；取出 PVDF 膜置于 5% 脱脂乳中室温封闭 2 h，随后置于一抗溶液中静置孵育 12 h，用 PBST 洗涤 3 次后，置于二抗溶液中常温孵育 2 h；取出 PVDF 膜，用 PBST 洗涤 3 次后，采用 ECL 发光法显色。

1.9 数据分析与处理

数据用平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，用 Graph Pad Prism 9 软件中的 two-way ANOVA 方法计算 P 值并分析差异显著性， $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 网络药理学筛选栝楼抗食管鳞癌活性成分及靶点

在 TCMSP 检索获得的 11 个 TkM 化学成分（见表 1）和 16 个靶点。将栝楼靶点与检索获得的 15 906 个 ESCC 靶点进行映射获得 15 个交集靶点（见图 1A）。将得到的 16 个靶点导入 STRING 在线数据库后，采用 Cytoscape 3.8.0 软件构建 PPI 网络并进行拓扑分析。结果显示，度值排名前 5 的靶点包括 BCL2、NR3C1、STAT3、PGR 和 PTGS2（见图 1B 和 C）。随后，构建“活性成分—靶点”网络，网络图中蓝色代表栝楼的活性成分，绿色代表活性成分的作用靶点，节点度值越大，图形越大（见图 1D）。根据度值大小最终筛选出主要活性成分为香叶木素、羟基芫花素、葫芦素 B。

表 1 栝楼活性成分信息

Table 1 Information of active ingredients of TkM

| 编号 No. | MOL ID | 化合物 Compound | 分子质量 Molecular weight | OB (%) | DL |
|-----------|-----------|---|--------------------------|--------|------|
| 1 | MOL001494 | 亚麻油酸乙酯 Mandenol | 308.56 | 42 | 0.19 |
| 2 | MOL002881 | 香叶木素 Diosmetin | 300.28 | 31.14 | 0.27 |
| 3 | MOL004355 | 菠甾醇 Spinasterol | 412.77 | 42.98 | 0.76 |
| 4 | MOL005530 | 羟基芫花素 Hydroxygenkwanin | 300.28 | 36.47 | 0.27 |
| 5 | MOL006756 | 仙人掌甾醇 Schottenol | 414.79 | 37.42 | 0.75 |
| 6 | MOL007165 | 10 α -cucurbita-5,24-diene-3 β -ol | 426.8 | 44.02 | 0.74 |
| 7 | MOL007171 | 5-dehydrokaroundiol | 438.76 | 30.23 | 0.77 |
| 8 | MOL007172 | 7-oxo-dihydrokaro-unidiol | 456.78 | 36.85 | 0.75 |
| 9 | MOL007179 | 亚麻酸乙酯 Linolenic acid ethyl ester | 306.54 | 46.1 | 0.2 |
| 10 | MOL007180 | 维生素 E Vitamin-E | 490.69 | 32.29 | 0.7 |
| 11 | MOL002440 | 葫芦素 B | 558.78 | 25.90 | 0.75 |

Cucurbitacin B

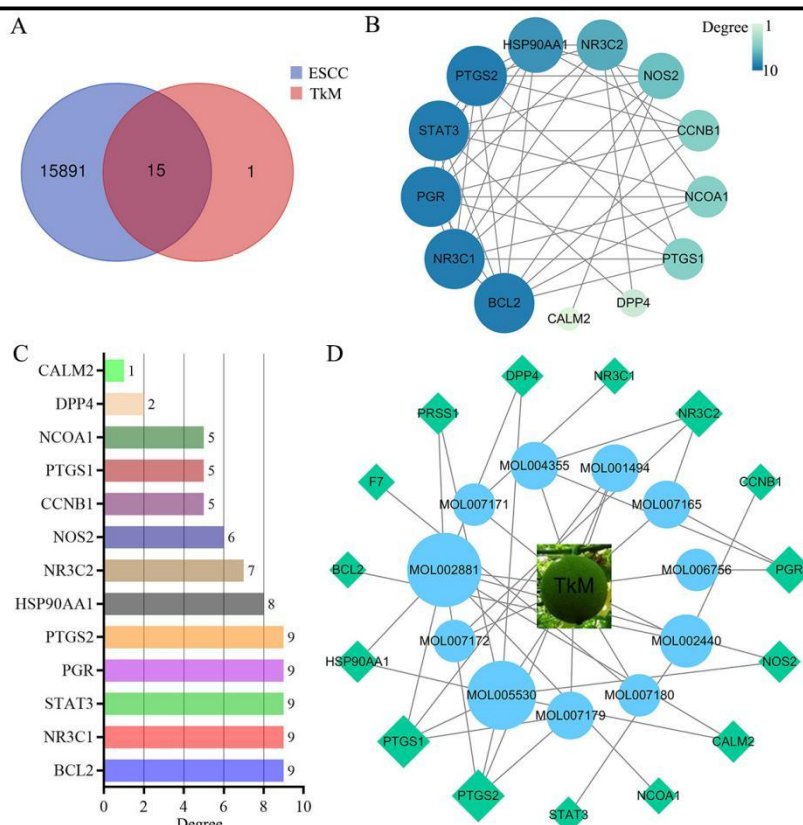


图 1 疾病-药物靶点分析

Fig. 1 Disease-drug target analysis

2.2 GO 富集分析

将获得的 16 个靶点导入 DAVID 数据库进行 GO 富集分析，筛选获得 28 个生物过程条目、9 个细胞组分条目和 22 个分子功能条目 ($P < 0.05$)，对排名前 10 的 GO 条目进行可视化分析。结果显示，TkM 抗 ESCC 作用涉及肽基丝氨酸磷酸化的正向调节 (positive regulation of peptidyl-serine phosphorylation)、对雌二醇的反应 (response to estradiol)、细胞内类固醇激素受体信号通路 (intracellular steroid hormone receptor signaling pathway) 等生物过程，涉及核质 (nucleoplasm)、分子复合物 (macromolecular complex)、细胞质 (cytosol) 等细胞组分条目，以及 RNA 聚合酶 II 转录因子活性 (RNA polymerase II transcription factor activity)、雌激素反应原件结合 (estrogen response element binding)、蛋白质同源二聚活性 (protein homodimerization activity) 等分子功能条目有关 (见图 2)。结果提示，栝楼活性成分抗 ESCC 作用体现在激素调节、在细胞活性、细胞转录因子调控等方面。

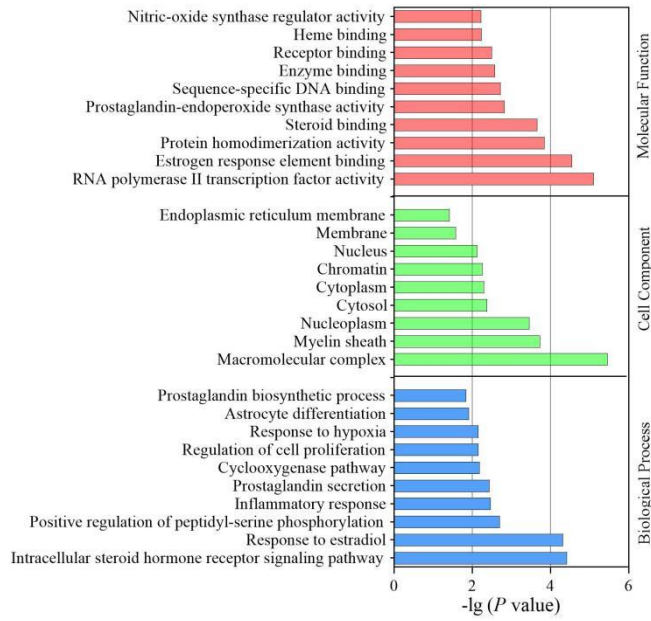


图 2 GO 富集分析

Fig. 2 GO enrichment analysis

2.3 KEGG 富集分析

对 16 个 TkM 抗 ESCC 靶点进行 KEGG 富集分析，共获得 16 条通路，主要包括化学致癌受体活化（chemical carcinogenesis-receptor activation）、脂质途径（lipid pathway）、HIF-1 信号通路（HIF-1 signaling pathway）、程序性坏死（necroptosis）等过程（见图 3）。结果提示，栝楼抗 ESCC 作用可能是基于炎症反应、脂质代谢、细胞程序性死亡等多途径的协同作用。

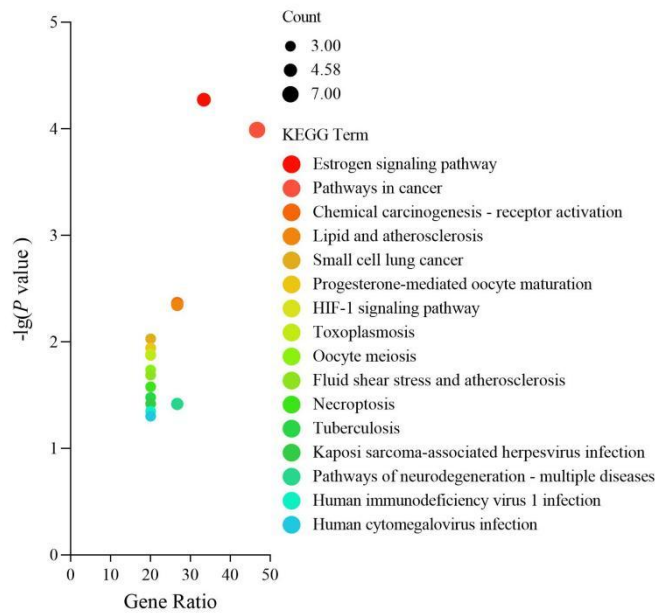


图 3 KEGG 富集分析

Fig. 3 KEGG enrichment analysis

2.4 栝楼提取物对 TE-1 细胞增殖活性的影响

为了探讨栝楼体外抗 ESCC 作用效果,采用 CCK8 法和平板克隆法分别检测 TkM 对 TE-1 细胞增殖活性的影响。结果显示,与 DMSO 组相比,50、100、200 以及 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的 TkM 处理后,显著降低了 TE-1 细胞存活率(见图 4)和细胞克隆数目(见图 5A、5B),且呈时间和浓度依赖性。结果提示, TkM 体外抑制了 TE-1 细胞的增殖活性。

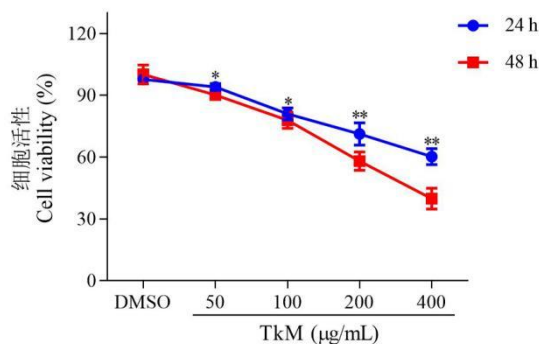


图 4 TkM 对 TE-1 细胞活性的影响

Fig. 4 Effect of TkM on TE-1 cell viability

注:与 DMSO 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 下同。

Note: Compared with DMSO group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, the same below.

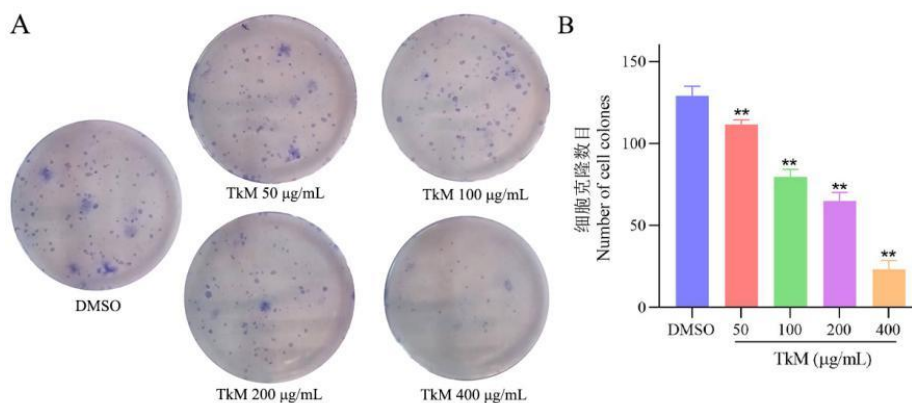


图 5 TkM 对 TE-1 细胞克隆的影响

Fig. 5 Effect of TkM on TE-1 cell clones

2.5 栝楼提取物对 TE-1 细胞迁移能力的影响

采用细胞划痕试验分析不同药物浓度的 TkM 对 TE-1 细胞迁移的影响。结果显示,与 DMSO 组相比,50、100、200 以及 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的 TkM 处理后, TE-1 细胞迁移速率显著降低,且呈药物浓度依赖性(见图 6A、6B)。结果提示, TkM 体外能有效抑制 TE-1 细胞的迁移。

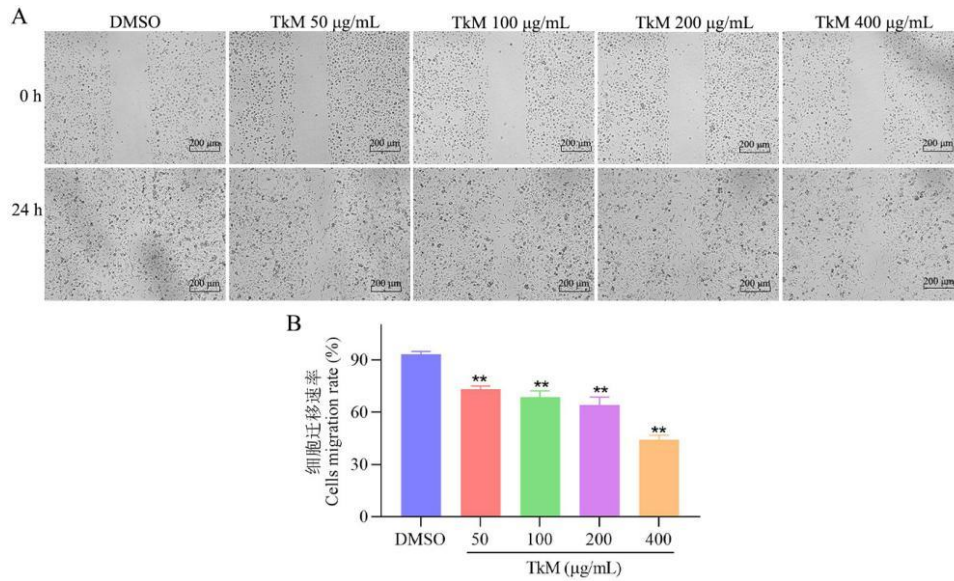


图 6 TkM 对 TE-1 细胞迁移的影响

Fig. 6 Effect of TkM on TE-1 cell migration

2.6 栝楼提取物对 TE-1 细胞凋亡的影响

用 100、200、400 µg/mL 浓度的 TkM 处理 TE-1 细胞 48 h 后，采用流式细胞术分析 TkM 对 TE-1 细胞凋亡的影响。结果显示，与 DMSO 组相比，随着 TkM 药物浓度的增加，TE-1 细胞存活率显著降低，而凋亡细胞数显著增多，且以早期凋亡为主（见图 7A、7B）。随后，采用 Western blot 方法检测了早期凋亡关键蛋白 c-Caspase3 和抗凋亡蛋白 BCL2 的表达水平，结果显示，与 DMSO 组相比，TkM 显著促进了 c-Caspase3 的表达，抑制了 BCL2 的表达，且呈浓度依赖性（见图 7C、7D）。结果提示，TkM 促进了 TE-1 细胞凋亡。

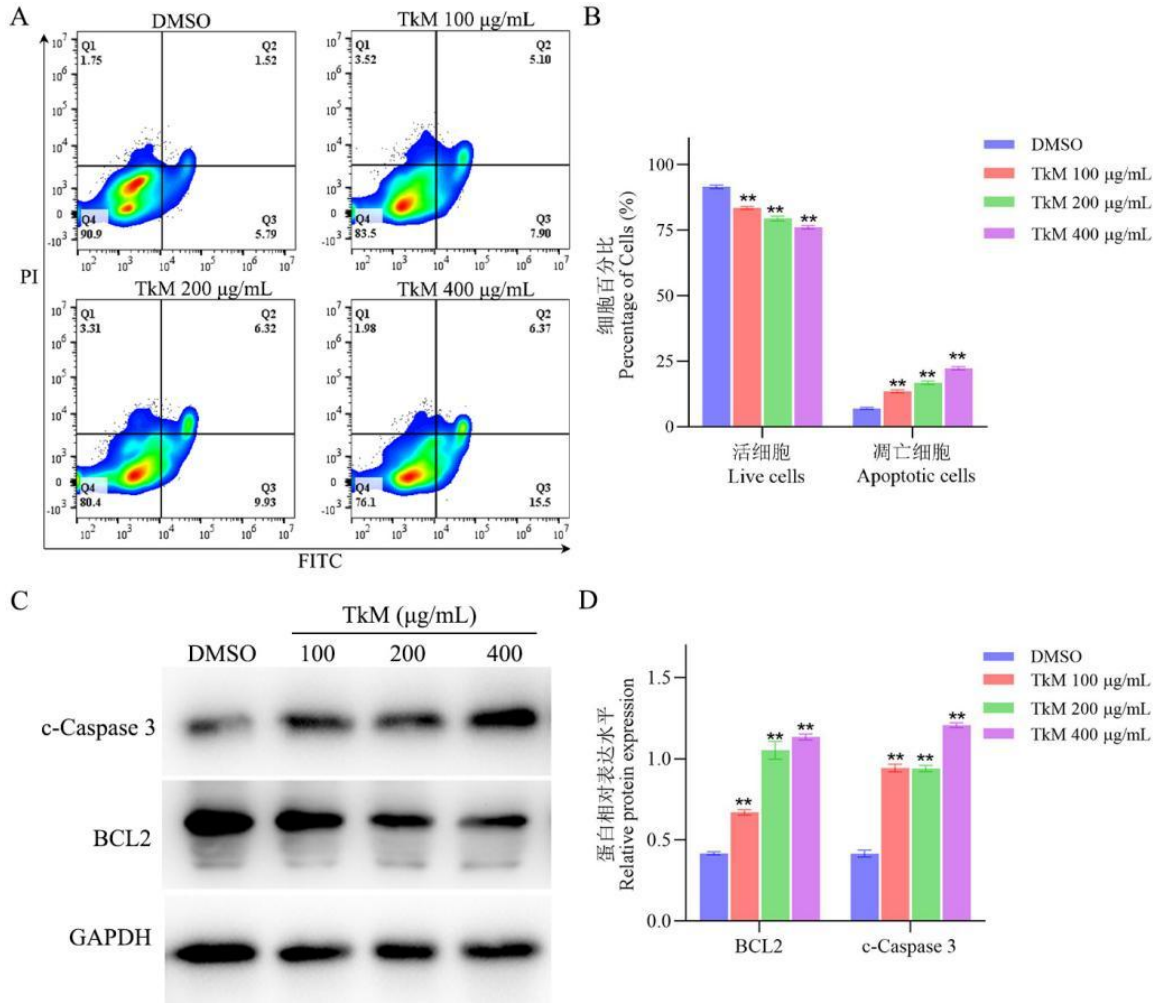


图 7 TkM 对 TE-1 细胞凋亡的影响

Fig. 7 Effect of TkM on TE-1 apoptosis

3 讨论与结论

近年来,食管癌发生率逐年增加,已然成为危害人类生命健康的主要恶性消化道肿瘤^[1]。目前,尚缺乏治疗食管癌的特异性有效药物。天然植物来源的栝楼富含多种药理活性成分,具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、免疫调节等多种药理作用,是一种极具开发和利用价值的药用植物资源。研究表明,栝楼体外能显著抑制肺癌、肝癌、前列腺癌等多种肿瘤细胞的增殖活性,但其确切活性成分、靶点及作用机制尚不明确^[3]。本研究利用网络药理学方法,建立栝楼抗食管癌作用的“化合物-靶标-食管癌”网络,探究栝楼抗人食管癌活性成分以及潜在作用机制,以期为后续研制具有靶向性强、安全、低毒的抗食管癌新药奠定基础。

网络药理学可从化合物、靶点、分子途径等多个角度解析药物预防和控制疾病的分子作用基础,对于预测药物药理学作用机制具有重要意义^[4]。基于网络药理学药物筛选标准,筛选获得香叶木素、羟基芫花素、葫芦素 B 等 15 个栝楼抗人食管癌活性成分。研究表明,香叶木素在抗肺癌、肝癌、直肠癌、前列腺癌等多种癌症方面表现出了良好的生物活性^[5]。

羟基芫花素可调节 *miR-320a* 的表达来抑制骨肉瘤细胞和肝癌细胞的增殖活性^[6]，与其他抗癌药物联合使用可显著提高抗癌效果^[7]。葫芦素 B 可抑制 STAT3 磷酸化，从而抑制肝癌细胞在体内外的增殖活性和迁移能力，促进肝癌细胞凋亡^[8]。根据药物靶点相互作用网络度值排序，筛选获得栝楼抗人食管癌活性成分的主要靶点包括 BCL2、NR3C1、STAT3、PGR 和 PTGS2。BCL2 作为抗凋亡与促凋亡 BH3 家族蛋白相互作用来调控内在细胞凋亡途径^[9]。NR3C1 作为一个抑癌蛋白，参与靶细胞的炎性反应、细胞增殖和分化^[10]。STAT3 与癌细胞的增殖、侵袭和迁移密切相关^[11]。PGR 是编码孕激素受体的蛋白，与乳腺癌细胞的增殖活性密切相关^[12]。PTGS2 是环加氧酶编码蛋白，参与在肿瘤细胞的炎性反应、细胞增殖和细胞凋亡等过程^[13]。我们研究发现，栝楼单一活性成分往往可以作用多个靶点蛋白，一个靶点蛋白又可同时被多个不同的活性成分干预。不同活性成分和不同靶点蛋白之间可直接或间接作用，构成复杂的相互作用网络，表明栝楼抗人食管癌效应可能是基于多种活性成分作用于多个靶点的协同作用。此外，GO 富集和 KEGG 通路分析涉及细胞生长、脂质代谢、炎症反应等多个细胞生物学进程。我们推测，香叶木素、羟基芫花素、葫芦素 B 等栝楼活性成分可能以 BCL2、NR3C1、STAT3、PGR、PTGS2 等蛋白为药理作用靶点，通过调控细胞增殖、细胞凋亡、脂质代谢等关键信号通路来发挥抗食管癌作用。

持续性的增殖和转移是恶性肿瘤细胞的主要生物学特征。研究表明，栝楼含药血清体外能有效抑制人宫颈癌 HeLa 细胞的增殖^[14]。从三尖栝楼中分离的葫芦素 B、葫芦素 J 和葫芦素 K 体外阻滞了肝癌细胞 BEL-7420 的增殖和转化^[15]。同样地，栝楼提取物体外显著抑制了 TE-1 细胞增殖活性和迁移能力，说明栝楼具有广泛的抗肿瘤活性。细胞凋亡是细胞程序性死亡的一种特殊形式，不仅参与调控机体的正常生理功能，同时与肿瘤性疾病发展进程密切相关。栝楼提取物处理后，TE-1 细胞凋亡数显著增多，且以早期凋亡为主。另外，栝楼提取物促进了早期凋亡的关键分子 Caspase-3 蛋白的表达，抑制了抗凋亡蛋白 BCL2 的表达，与前述网络药理学预测的栝楼抗肿瘤靶点结果一致。BCL2 是参与调控细胞内源性凋亡的主要分子，提示栝楼可能通过内源性途径诱导了肿瘤细胞凋亡。

综上，基于网络药理学分析发现，栝楼抗人食管癌作用是基于多成分、多靶点、多途径的协同复杂作用；栝楼提取物可能以 BCL2 为药物靶点，通过内源性途径诱导 TE-1 细胞发生早期凋亡。

参考文献

- 1 Uhlenhopp DJ,Then EO,Sunkara T,et al.Epidemiology of esophageal cancer:update in global trends,etiology and risk factors[J].Clin J Gastroenterol,2020,13:1010-1021.
- 2 Zhu HC,Ma X,Ye T,et al.Esophageal cancer in China:Practice and research in the new era[J].Int J

Cancer,2023,152:1741-1751.

- 3 Lei X,Li N,Bai ZS,et al.Chemical constituent from the peel of *Trichosanthes kirilowii* Maxim and their NF- κ B inhibitory activity[J].Nat Prod Res,2021,35:5132-5137.
- 4 Li S,Zhang B.Traditional Chinese medicine network pharmacology:theory,methodology and application[J].Chin J Nat Med,2013,11:110-120.
- 5 Raza W,Meena A,Luqman S.Diosmetin:a dietary flavone as modulator of signaling pathways in cancer progression[J].Mol Carcinog,2024,63:1627-1642.
- 6 Dong XL,Wang YH,Zhuang H,et al.Hydroxygenkwanin suppresses proliferation,invasion and migration of osteosarcoma cells via the miR-320a/SOX9 axis[J].Mol Med Rep,2022,26:299.
- 7 Chen CC,Chen CY,Cheng SF,et al.Hydroxygenkwanin increases the sensitivity of liver cancer cells to chemotherapy by inhibiting DNA damage response in mouse xenograft models[J].Int J Mol Sci,2021,22:9766.
- 8 Dai S,Wang C,Zhao XT,et al.Cucurbitacin B:A review of its pharmacology,toxicity,and pharmacokinetics[J].Pharmacol Res,2023,187:106587.
- 9 Wang JJ,Yuan PC,Xu HC,et al.Mechanism of apoptosis induced by exopolysaccharides from *Fusarium graminearum* on SGC-7901 cells[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2022,34:1204-1212.
- 10 Isikbay M,Otto K,Kregel S,et al.Glucocorticoid receptor activity contributes to resistance to androgen-targeted therapy in prostate cancer[J].Horm Cancer,2014,5:72-89.
- 11 Huang B,Lang XL,Li XH.The role of IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway in cancers[J].Front Oncol,2022,12:1023177.
- 12 Cenciarini ME,Proietti CJ.Molecular mechanisms underlying progesterone receptor action in breast cancer:Insights into cell proliferation and stem cell regulation[J].Steroids,2019,152:108503.
- 13 Kunzmann AT,Murray LJ,Cardwell CR,et al.PTGS2(Cyclooxygenase-2) expression and survival among colorectal cancer patients:a systematic review[J].Cancer Epidemiol Biomarkers Prev,2013,22:1490-1497.
- 14 Zhou YF,Tian JX,Jin W,et al.Effect of serum containing Fructus Trichosanthis on the proliferation of HeLa cells in cervical cancer[J].Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药),2011,22:2119-2121.
- 15 Zhou YM,Tang Z,Zhang SF.Isolation and identification of antitumor constituents from *Trichosanthes tricuspidata*[J].J China Pharm Univ(中国药科大学学报),2019,50:46-52.

收稿日期: 2024-09-03

接受日期:

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目(23B310006); 安阳市重大科技专项(2022A02NY002); 安阳工学院博士启动资金项目(BSJ2021007); 河南省本科高校大学生创新创业训练计划(202311330011)

*通信作者 Tel: 0372-2592302; E-mail: 20200037@ayit.edu.cn