

· 基础研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.05.001

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250218.0847.002\(2025-02-18\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250218.0847.002(2025-02-18))

基于网络药理学和细胞实验探讨广藿香抗胶质瘤的作用机制^{*}

陈海欣¹, 郇靖², 王明光³, 李金星^{3△}

(1. 山东第二医科大学临床医学院, 山东潍坊 261000; 2. 临沂市人民医院针灸科, 山东临沂 276000; 3. 临沂市人民医院脑肿瘤与神经脊柱外科, 山东临沂 276000)

[摘要] **目的** 基于网络药理学和细胞实验探讨广藿香治疗胶质瘤的作用靶点及其潜在的作用机制。**方法** 使用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)和中医药综合数据库(TCMID)等数据库收集广藿香的活性成分和作用靶点。通过 Gene Cards、OMIM 等数据库收集胶质瘤的相关靶点,采用 Cytoscape3.7.1 软件建立“药物-靶点”和“疾病-靶点”的网络图。获取广藿香治疗胶质瘤的交集靶点,使用 STRING 数据库进行分析,并建立其蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络图。通过 DAVID 数据库对关键靶点进行基因本体(GO)功能富集分析和京都基因和基因百科全书(KEGG)通路富集分析。对关键信号通路进行体外细胞实验,取胶质瘤 U87 细胞,将其分为对照组(加入基础培养基),60、90、120 μg/mL 广藿香组(分别加入含 60、90、120 μg/mL 广藿香的培养基),采用细胞计数试剂盒(CCK-8)和细胞划痕实验检测各组细胞增殖和迁移能力。使用 Western blot 检测各组细胞丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1)、V-Rel 网状内皮增生病毒癌基因同源物 A(RELA)、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)、磷酸化-PI3K(p-PI3K)和磷酸化-Akt(p-Akt)的表达水平。**结果** 共获得广藿香主要化学成分 94 个,按照筛选条件得到 9 个有效活性成分和 239 个药物靶点蛋白,4 526 个胶质瘤疾病相关基因,121 个药物与疾病共有靶点。PPI 网络发现 Akt1、c-Jun 氨基端激酶(JUN)、MAPK1、RELA、白介素(IL)-6、表皮生长因子受体(EGFR)等可能是广藿香治疗胶质瘤的关键靶点。GO 功能富集分析确定了生物过程 1 819 个、细胞组分 109 个、分子功能 216 个,涉及细胞代谢过程的正向调控、蛋白同源二聚体活性、激酶激活和膜筏等方面。KEGG 通路富集分析确定了 181 条相关信号通路,涉及抗癌、炎症、细胞凋亡、内分泌、免疫调节等方面,主要有 PI3K/Akt、晚基糖基化终末产物(AGE)/晚基糖基化终末产物受体(RAGE)、IL-17 和缺氧诱导因子-1(HIF-1)、肿瘤坏死因子(TNF)等信号通路。体外实验结果显示,与对照组比较,随着广藿香醇提物剂量增加,细胞活力降低,细胞迁移能力降低,MAPK1、RELA、p-PI3K 和 p-Akt 蛋白表达水平降低。**结论** 广藿香通过多靶点、多途径协同抑制胶质瘤的发展,可通过 PI3K/Akt 通路抑制 U87 细胞增殖。

[关键词] 广藿香;胶质瘤;网络药理学;PI3K/Akt 通路;机制

[中图法分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2025)05-1041-09

Mechanism of pogostemon cablin in the treatment of glioma based on network pharmacology and cellular experiments^{*}

CHEN Haixin¹, HUAN Jing², WANG Mingguang³, LI Jinxing^{3△}

(1. School of Clinical Medicine, Shandong Second Medical University, Weifang, Shandong 261000, China; 2. Department of Acupuncture and Moxibustion, Linyi People's Hospital, Linyi, Shandong 276000, China; 3. Department of Brain Tumor and Neurospinal Surgery, Linyi People's Hospital, Linyi, Shandong 276000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the action targets and related mechanisms of pogostemon cablin in the treatment of glioma based on network pharmacology and cellular experiments. **Methods** The active ingredients and action targets of pogostemon cablin were collected by using databases such as the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and the Traditional Chinese Medicine Comprehensive Database (TCMID). The relevant targets of glioma were collected through databases such as Gene Cards and OMIM, and the network diagrams of “drug-target” and “disease-target” were established by using Cytoscape3.7.1 software. The intersection targets of pogostemon cablin for treating glioma were obtained and STRING database was used to analyzed, and their protein-protein interaction (PPI) net-

^{*} 基金项目:山东省医药卫生科技发展项目(202204041103)。 [△] 通信作者, E-mail: lijinxing@163.com。

work diagram was established. Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis on key targets were performed by using the DAVID database. In vitro cell experiments on key signaling pathways were conducted, U87 glioma cells were collected and divided into the control group (added to basic culture medium) and the 60, 90, 120 $\mu\text{g/mL}$ pogostemon cablin groups (added to culture medium containing 60, 90, and 120 $\mu\text{g/mL}$ pogostemon cablin, respectively). CCK-8 assay and wound healing assay were used to detect the proliferation and migration ability of each group of cells, and the protein expression levels of mitogen activated protein kinase 1 (MAPK1), recombinant V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A (RELA) phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), protein kinase B (Akt), phosphorylated-PI3K (p-PI3K), and phosphorylated-Akt (p-Akt) in each group of cells were detected by Western blot.

Results A total of 94 main chemical constituents of pogostemon cablin were obtained. According to the screening conditions, 9 effective active ingredients, 239 drug target proteins, 4 526 glioma related genes and 121 drug and disease common targets were identified. Protein interaction networks discovered that Akt1, c-Jun N-terminal kinase (JUN), MAPK1, RELA, interleukin (IL)-6 and epidermal growth factor receptor (EGFR) may be the key targets of pogostemon cablin in the treatment of glioma. GO function enrichment analysis identified 1 819 items in biological processes, 109 items of cellular components and 216 items of molecular functions, which involved various aspects such as the positive regulation of the cellular metabolic process, the activity of protein homodimers, kinase activation, and membrane rafts. KEGG pathway enrichment analysis identified 181 related signaling pathways, involving anti-cancer, inflammation, cell apoptosis, endocrine, immune regulation and so on, mainly including the PI3K/Akt pathway, advanced glycation advanced glycation end products (AGE)/receptor for advanced glycation end products (RAGE) pathway, IL-6 pathway, and HIF-1 pathway, TNF pathway and so on. The in vitro experimental results showed that compared with the control group, with the increase of the dose of the alcohol extract of pogostemon cablin, the cell activity decreased, the cell migration ability decreased, and the expression levels of MAPK1, RELA, p-PI3K and p-Akt proteins decreased ($P<0.05$).

Conclusion Pogostemon cablin can synergistically inhibit the development of glioma through multiple targets and pathways, and can suppress cell proliferation of U87 cells through the PI3K/Akt pathway.

[Key words] pogostemon cablin; glioma; network pharmacology; PI3K/Akt pathway; mechanism

胶质瘤是源自神经上皮的肿瘤,是颅内最常见的恶性肿瘤,占颅内肿瘤的 40%~50%,具有发病迅速、预后差和易复发等特点^[1]。当前主要治疗手段为手术切除及放化疗,这些治疗手段虽然可以增加生存时间,但易复发、易产生耐药,使患者中位生存时间不足 15 个月^[2-3]。因此,迫切需要探索能够辅助当前治疗手段的新药。

广藿香作为一味中药属于唇形科刺蕊草属,是多年生草本植物,又称刺蕊草、霍香^[4]。前期研究发现,广藿香有抗菌、抗病毒和抗炎等作用^[5-6]。但近些年,越来越多的研究发现,广藿香对癌症也具有明显抑制作用,比如结肠癌、胃癌、宫颈癌和子宫内膜癌等^[7-9],但其对胶质瘤的作用研究尚未见报道。网络药理学是建立在计算机虚拟计算、高通量组学数据分析等技术基础上的融合多学科理论发展形成的一种新方法^[10],因其具有整体性和系统性的优势,现广泛应用于中药复方及单味药的作用机制研究中^[11],为预测药物作用于疾病的关键靶点和通路提供了可靠的研究平台^[12]。本研究拟采用网络药理学方法,预测广藿香治疗胶质瘤的关键靶点和潜在作用机制,再选择不同

浓度广藿香醇提物进行细胞学实验,验证其可能的分子机制,以期为广藿香临床治疗胶质瘤提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 软件与数据库

本研究分析广藿香活性成分及作用靶点,分析胶质瘤的相关靶点采用的软件或数据库见表 1。

1.2 细胞、药物及试剂

胶质瘤细胞系 U87 由临沂市人民医院生物样本库保存;广藿香购自临沂市人民医院中药房;DMEM 培养基、胎牛血清、青-链霉素双抗和胰酶均购自美国 Gibco 公司;细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit, CCK-8)、BCA 试剂盒、蛋白裂解液、苯甲基磺酰氟 (phenylmethanesulfonylfluoride, PMSF)、氟化钠和 PI3K 激动剂 IGF-1 均购自上海碧云天生物技术有限公司;一抗[丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、磷酸化-PI3K (p-PI3K) 和磷酸化-Akt (p-Akt)]购自上海北诺生物科技有限公司;

V-Rel 网状内皮增生病毒癌基因同源物 A(recombi-nant V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene hom-olog A,RELA)一抗购自美国 Affinity 公司;GAPDH 一抗及所有二抗购自武汉博士德生物工程有限公司;细胞培养箱购自益世科生物(上海)企业发展有限公司。

表 1 软件与数据库

软件或数据库	网站
中药系统药理分析平台 (TCMSP)	https://tcmspw.com/tcmsp.php
中医药综合数据库 (TCMID)	http://www.megabionet.org/tcmid
UniProt 数据库	http://www.uniprot.org
GeneCards 数据库	https://www.genecards.org
OMIM 数据库	https://www.omim.org
TTD 数据库	https://db.idrblab.org/ttd
Venn diagram	http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn
STRING 数据库	https://string-db.org
DAVID 数据库	https://david.ncifcrf.gov
Cytoscape3.7.1 软件	https://tcmspw.com/tcmsp.php

1.3 广藿香活性成分及作用靶点筛选

通过 TCMSP 和 TCMID 数据库检索广藿香活性成分,以生物利用度(oral bioavailability,OB)≥ 30% 和类药性(drug likeness,DL)指数≥ 0.18 为标准,筛选其活性成分。通过 TCMSP 数据库检索广藿香活性成分对应的作用靶点,设置物种为“homo sapiens”,基于 UniProt 数据库将收集的靶点蛋白数据进行标准化处理。

1.4 “药物-疾病”网络模型的构建与分析

以“glioma”为关键词,使用 GeneCards、OMIM 和 TTD 数据库检索胶质瘤相关的基因。采用 Venn diagram 在线进行胶质瘤靶点与广藿香活性成分作用靶点分析,构建其交集靶点。再使用 Cytoscape3.7.1 软件构建“药物-靶点”和“疾病-靶点”的网络图。

1.5 蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction,PPI)网络的构建

将广藿香与胶质瘤的交集靶点上传至 STRING 数据库中,设置物种为“homo sapiens”,置信度蛋白参数评分值≥0.900,获取蛋白相互作用信息,根据结果对靶点蛋白进行分析。

1.6 生物信息学分析

将获取的靶点上传至 DAVID 数据库,进行基因本体(gene ontology,GO)功能富集分析、京都基因和基因百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Ge-nomes,KEGG)通路富集分析,其中 GO 包括生物学过程、细胞组分和分子功能。通过 Cytoscape3.7.1 软

件构建排名前 10 位靶点和排名前 20 位信号通路的网络图。

1.7 细胞实验验证

1.7.1 药物制备

取适量广藿香置于破壁机进行粉碎处理后,使用 75%乙醇浸泡 24 h,超声仪超声处理 30 min,使用离心机离心(3 500 r/min 离心 10 min),收取上清液,使用旋转蒸发器进行旋转蒸发,此时广藿香醇提物呈膏状,-80 ℃ 过夜,直至完全冰冻,接着使用真空冷冻干燥机进行冻干处理,获得广藿香冻干粉。使用时,称取 10 mg 的广藿香提取物粉末溶于 10 μL 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide,DMSO)中,即可得到浓度为 100 mg/mL 的广藿香醇提物,将其置于 4 ℃ 冰箱中避光保存,给药时使用完全培养基将母液稀释成所需浓度。

1.7.2 CCK-8 试验检测细胞增殖情况

收集对数生长期的 U87 细胞,将其制备为 1.0×10⁴/mL 的细胞悬液并接种在 96 孔培养板中,每孔 100 μL。置于细胞培养箱中过夜培养,贴壁后弃上清液,加入不同浓度的广藿香醇提物(60、90、120 μg/mL,分别命名为 60、90、120 μg/mL 广藿香组),对照组为不含广藿香醇提物的完全培养基,于 37 ℃、5% CO₂ 细胞培养箱培养 24 h 后每孔加入 10 μL CCK-8 溶液,37 ℃再培养 30 min,用酶标仪检测各孔在 450 nm 处的吸光度[A₍₄₅₀₎],计算细胞增殖抑制率。

1.7.3 细胞划痕实验检测细胞迁移

取对数生长期的细胞配制细胞浓度为 5×10⁵/mL 的细胞悬液,取 200 μL 接种于 6 孔培养板,待细胞间无明显间隙时用 200 μL 的灭菌枪头在细胞层上划痕,PBS 洗去划下的细胞,标记为 0 h。将不同浓度的广藿香醇提物加入 6 孔培养板处理 24 h,显微镜下观察拍照,并计算划痕愈合度。

1.7.4 Western blot 检测相关蛋白表达水平

取对数生长期的细胞,相应浓度药物处理 24 h 后用冷却的磷酸盐缓冲溶液(phosphate-buffered sa-line,PBS)洗 3 次,加入适量 RIPA 裂解液,冰上处理,使用细胞刮将细胞刮下,置于 1.5 mL EP 管中,每隔一定时间,使用涡旋仪处理一次,其他时间 EP 管均置于冰上,然后使用离心机离心,提取上清液,从而获得细胞总蛋白,接着按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书进行蛋白浓度定量。定量后的蛋白加入 Loading buffer 在 100 ℃ 恒温水浴 10 min;获取的蛋白利用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis,SDS-PAGE)进行分离,接着蛋白转移到聚偏氟乙烯(vinylidene fluoride,PVDF)膜;室温下用 5% BSA 封闭 2 h,TBST 洗涤;将膜与一抗(稀释比:MAPK1 1 : 1 000,RELA 1 : 3 000,p-PI3K 1 : 1 000,PI3K 1 : 3 000,Akt 1 : 2 000,p-Akt 1 : 1 000,GAPDH

1 : 10 000)于 4 ℃条件下孵育过夜,TBST 洗涤 3 次,每次 10 min;用 TBST 配置的辣根过氧化物酶标记的二抗(1 : 10 000)室温孵育 1 h 后,TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。滴加超敏增强化学发光液,在暗室压片、曝光、拍照,使用 Image J 软件对蛋白条带进行灰度分析。

1.8 统计学处理

采用 SPSS21.0 软件进数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用

单因素方差分析,实验均至少重复 3 次,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 广藿香活性成分筛选

经数据库筛选收集,一共获得广藿香主要化学成分 94 个。根据所设定的阈值 $OB \geq 30\%$,DL 指数 ≥ 0.18 筛选后,获得广藿香主要有效活性成分 9 个(表 2),药物靶点蛋白 239 个。

表 2 广藿香有效活性成分

Mol ID	分子名	OB(%)	DL
MOL002879	邻苯二甲酸二异辛酯	43.59	0.39
MOL005573	羌花素	37.13	0.24
MOL005911	5-羟基-7,4'-二甲氧基黄酮	51.54	0.27
MOL005916	尼泊尔鸢尾素	37.78	0.30
MOL005918	菲酮	38.70	0.33
MOL005921	槲皮素-7-O-β-D-葡萄糖苷	49.57	0.27
MOL005922	刺五加提取物	43.35	0.77
MOL005923	常春藤皂苷元	30.86	0.86
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28

2.2 广藿香活性成分-靶点和胶质瘤-靶点网络构建

通过 GeneCards、OMIM、TTD 数据库收集了胶质瘤的相关靶点 4 526 个。联合上述获得的广藿香 9 个有效活性成分和 239 个药物靶点蛋白。通过在线 Venn diagram 获得广藿香与胶质瘤共有潜在靶点 121 个,见图 1;构建了“广藿香活性成分-靶点”和“胶质瘤-靶点”的网络图,见图 2,结果显示,广藿香同一有效活性成分可对多个靶点进行调控,同一靶点也对应多个有效活性成分,说明广藿香通过多成分、多靶点发挥抗胶质瘤的作用。

2.3 广藿香治疗胶质瘤 PPI 网络构建

使用 STRING 数据库分析获得的 121 个交集靶

点,构建其 PPI 网络图,共获得 111 个关键靶点蛋白,具体作用关系见图 3。通过 Count 值筛选了广藿香治疗胶质瘤排名前 30 位的靶点,见表 3。

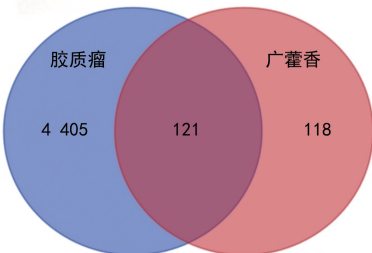


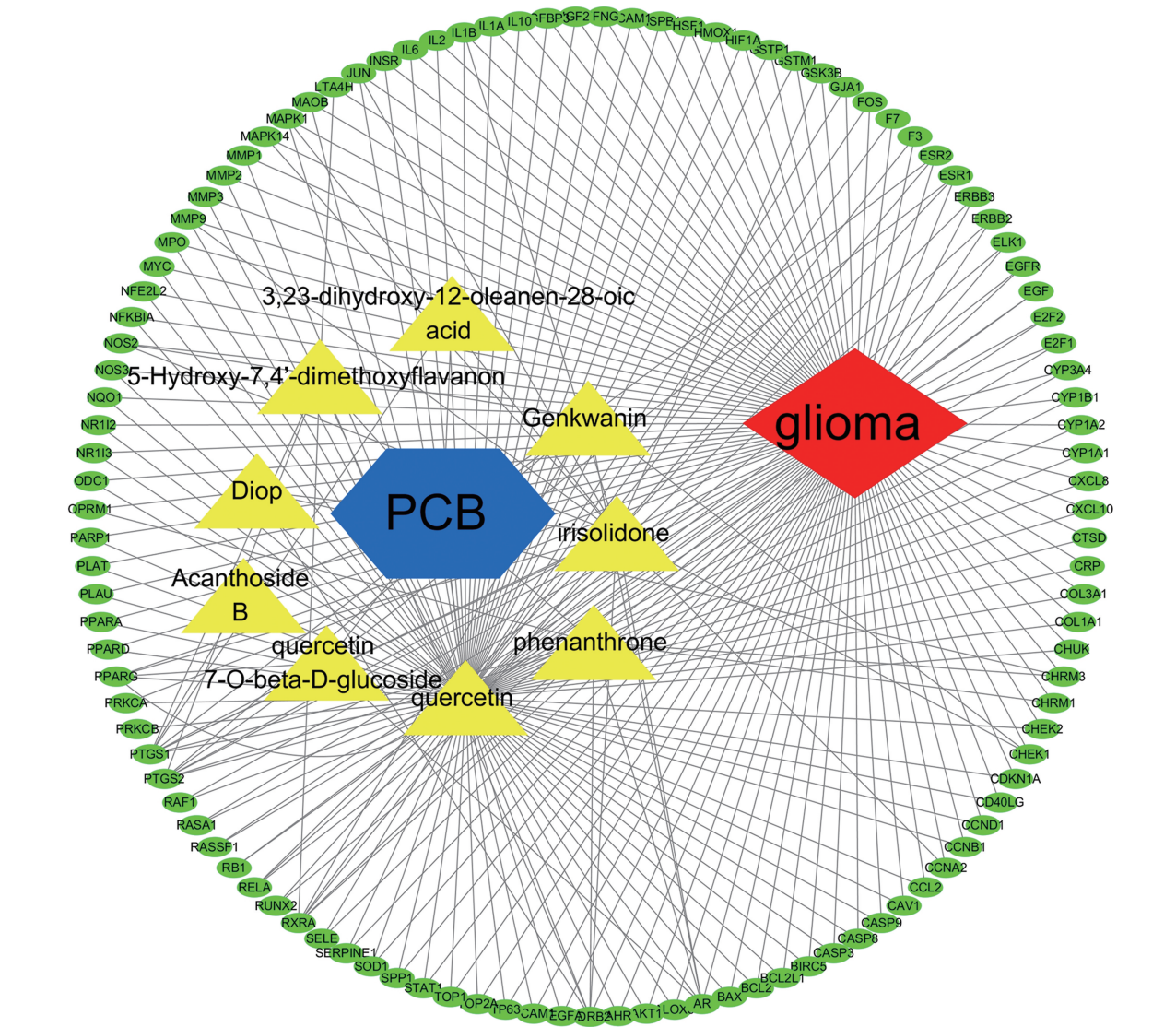
图 1 “广藿香活性成分-靶点”和“胶质瘤-靶点”的韦恩图交集

表 3 广藿香治疗胶质瘤 STRING 网络 Count 值排名前 30 的关键靶点

序号	基因名称	Count 值	序号	基因名称	Count 值
1	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1(Akt1)	30	16	表皮生长因子(EGF)	13
2	c-JUN 氨基端激酶(JUN)	29	17	蛋白激酶 Cα(PRKCa)	13
3	丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1)	29	18	维甲酸 X 受体 α(RXRα)	12
4	P65 基因(RELA)	23	19	信号转导及转录激活因子 1(STAT1)	12
5	白细胞介素-6(IL-6)	21	20	核因子 κB 抑制蛋白 α(NFKBIα)	12
6	表皮生长因子受体(EGFR)	18	21	蛋白激酶 Cβ(PKCB)	12
7	丝裂原活化蛋白激酶 14(MAPK14)	18	22	细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A(CDKN1A)	11
8	视网膜母细胞瘤蛋白 1(RB1)	16	23	半胱天冬酶 8(CASP8)	11
9	原癌基因 c-FOS(FOS)	16	24	白细胞介素-2(IL-2)	11
10	细胞周期蛋白 D1(CCND1)	16	25	单核细胞趋化蛋白 1(CCL2)	11

续表 3 广藿香治疗胶质瘤 STRING 网络 Count 值排名前 30 的关键靶点

序号	基因名称	Count 值	序号	基因名称	Count 值
11	原癌基因 c-MYC(MYC)	15	26	白细胞介素-10(IL-10)	9
12	血管内皮生长因子 A(VEGFA)	15	27	糖原合成酶激酶 3β(GSK3β)	9
13	雌激素受体 1(ESR1)	15	28	半胱天冬酶 3(CASP3)	9
14	白细胞介素-1β(IL-1β)	14	29	基质金属蛋白酶-9(MMP-9)	9
15	白细胞介素-8(IL-8)	14	30	过氧化物酶体增殖物激活受体 α(PPARα)	9



蓝色 PCB;广藿香;红色 glioma;胶质瘤;黄色三角形:广藿香的活性成分;绿色原点:作用的靶标;灰色线条:相互作用关系。

图 2 “广藿香活性成分-靶点”和“胶质瘤-靶点”的网络图

2.4 广藿香治疗胶质瘤基因 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

获得关键靶蛋白以后,利用在线 STRING 数据库对这些关键靶点进行 GO 功能富集分析,在 GO 功能富集分析中,确定了生物学过程 1 819 个、细胞组分 109 个和分子功能 216 个。每个部分均根据 *P* 值筛选相关性最强的前 10 条进行可视化作图,见图 4。其中,生物学过程主要涉及细胞代谢过程的正向调控等;分子功能主要涉及蛋白同源二聚体活性、激酶激活和细胞组分主要涉及膜筏、核质和蛋白复合物等蛋

白激酶激活等。KEGG 通路富集分析结果见图 5,涉及抗癌、炎症、细胞凋亡、内分泌和免疫调节等方面,主要有 PI3K/Akt、晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGE)/晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)、白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)、缺氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等经典信号通路,以上结果说明广藿香治疗胶质瘤的潜在靶点分布于多条信号通路中,根据生物信息学结果本文将选

取 PI3K/Akt 通路进行研究。

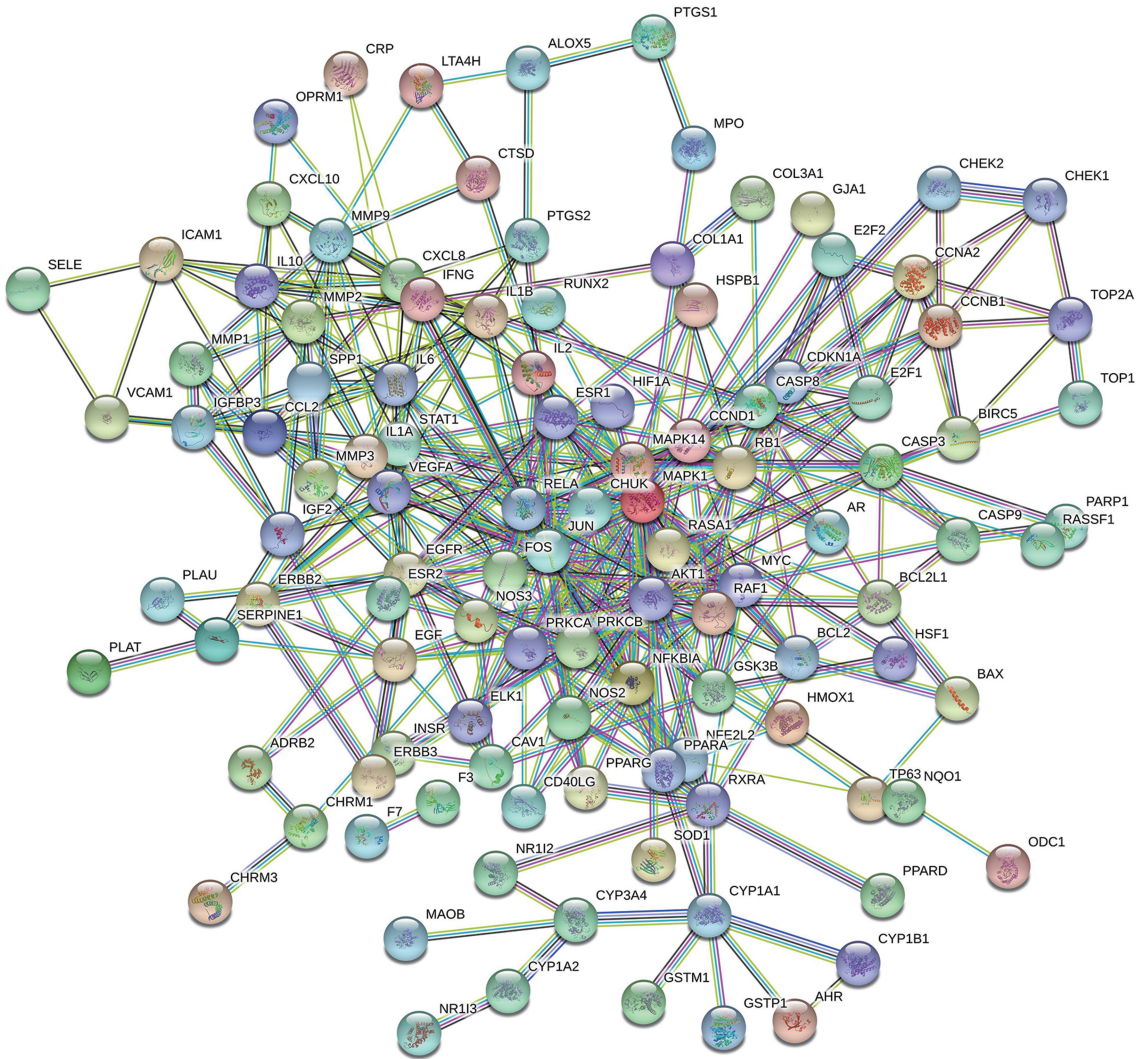
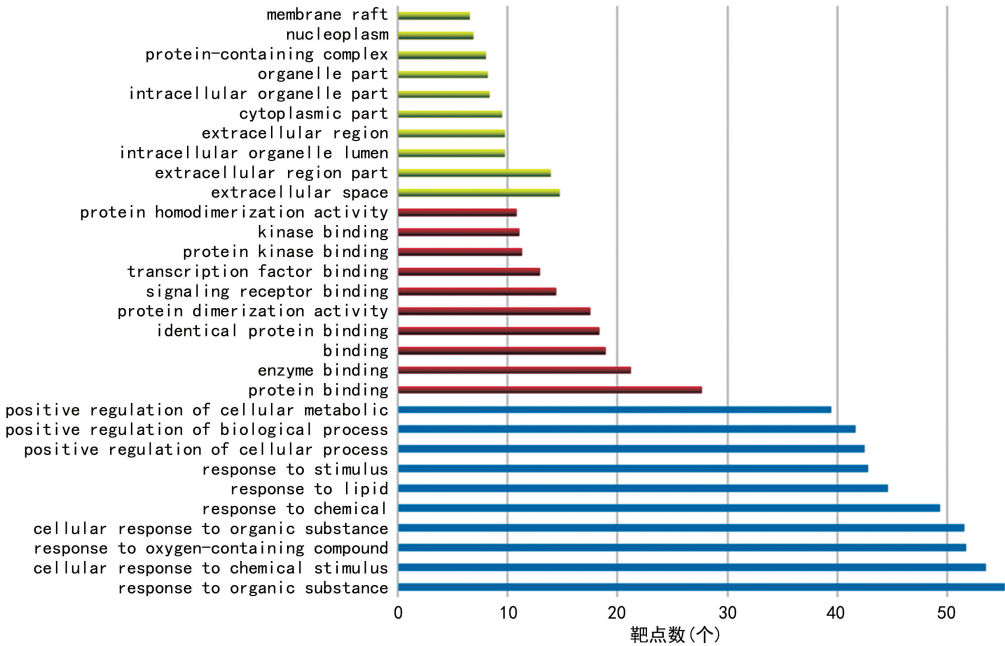


图 3 广藿香治疗胶质瘤 PPI 网络



蓝色：生物学过程；黄色：细胞组分；红色：分子功能。

图 4 广藿香治疗胶质瘤关键靶点排名前 10 的 GO 功能富集分析

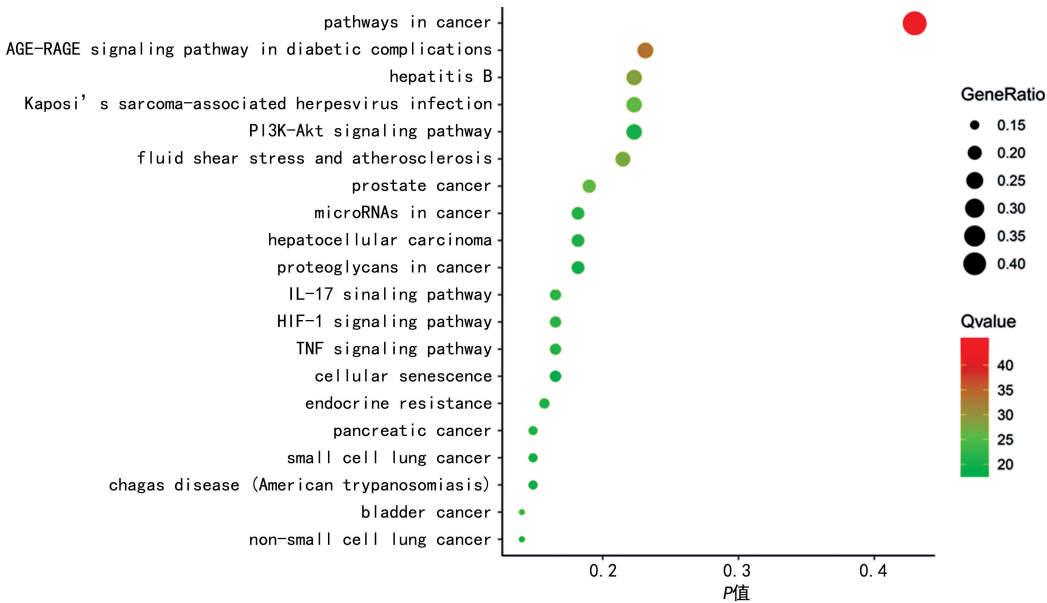


图5 广藿香治疗胶质瘤关键靶点排名前20的KEGG通路富集分析

2.5 广藿香对U87细胞增殖的影响

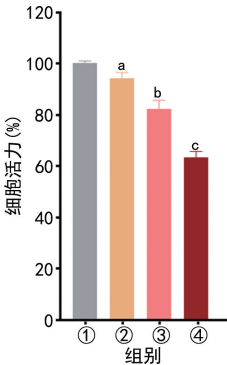
CCK-8实验结果表明,随着广藿香浓度升高,U87细胞活力降低,各浓度广藿香组细胞活力较对照组降低($P<0.05$),见图6。

2.6 广藿香对U87细胞迁移能力的影响

采用细胞划痕实验分析广藿香醇提物对U87细胞迁移能力的影响。与对照组比较,60、90、120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 广藿香组划痕愈合程度明显降低($P<0.001$),且随着广藿香浓度的升高,划痕愈合度降低,见图7。

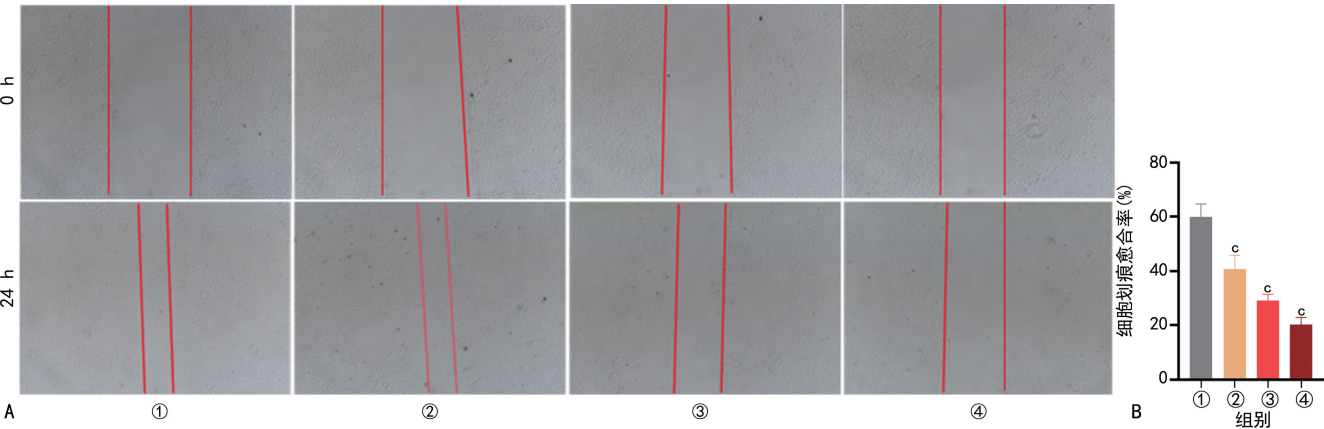
2.7 广藿香对U87细胞核心靶点蛋白MAPK1、RELA表达水平的影响

Western blot结果显示,与对照组比较,120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 广藿香组细胞核心靶点蛋白MAPK1和RELA表达水平下降($P<0.01$),见图8。



①:对照组;②:60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 广藿香组;③:90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 广藿香组;④:120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 广藿香组;^a: $P<0.05$,^b: $P<0.01$,^c: $P<0.001$,与对照组比较。

图6 不同浓度广藿香对胶质瘤U87细胞增殖的影响



A:细胞划痕实验(100 $\times$);B:细胞划痕实验定量分析;①:对照组;②:60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 广藿香组;③:90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 广藿香组;④:120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 广藿香组;^c: $P<0.001$ 。

图7 不同浓度广藿香对胶质瘤U87细胞迁移的影响

2.8 广藿香对U87细胞PI3K/Akt通路的影响

生物信息学结果分析,广藿香通过PI3K/Akt通路调控胶质瘤的细胞增殖,因此采用Western blot检测PI3K/Akt通路在胶质瘤U87细胞中的表达情况。

结果显示,与对照组比较,60、90、120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 广藿香组细胞p-PI3K和p-Akt表达水平明显降低,见图

9A,但加入 PI3K 激动剂 IGF-1 后,120 $\mu\text{g/mL}$ 广藿香+80 ng/mL IGF-1 组 p-PI3K 和 p-Akt 表达水平

较 120 $\mu\text{g/mL}$ 广藿香组明显增加,见图 9B。

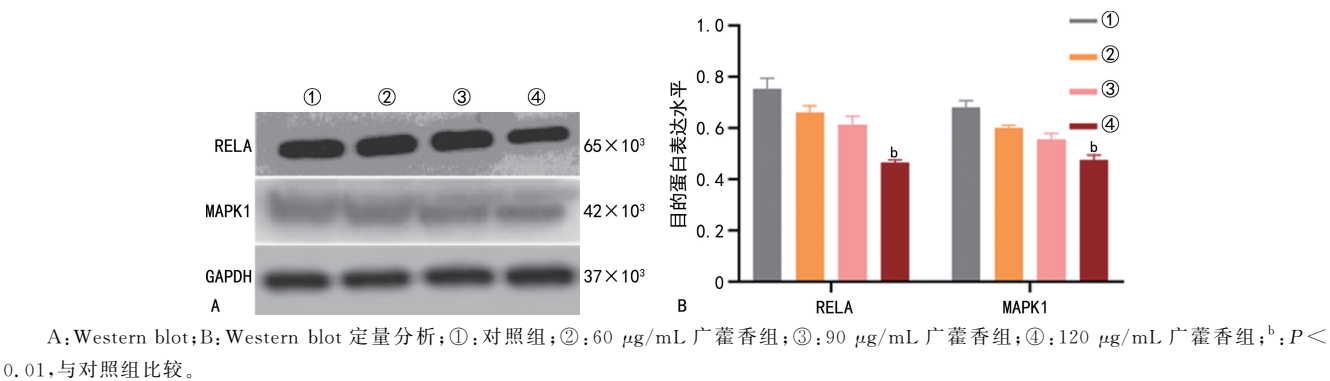


图 8 广藿香对核心靶点蛋白表达水平的影响

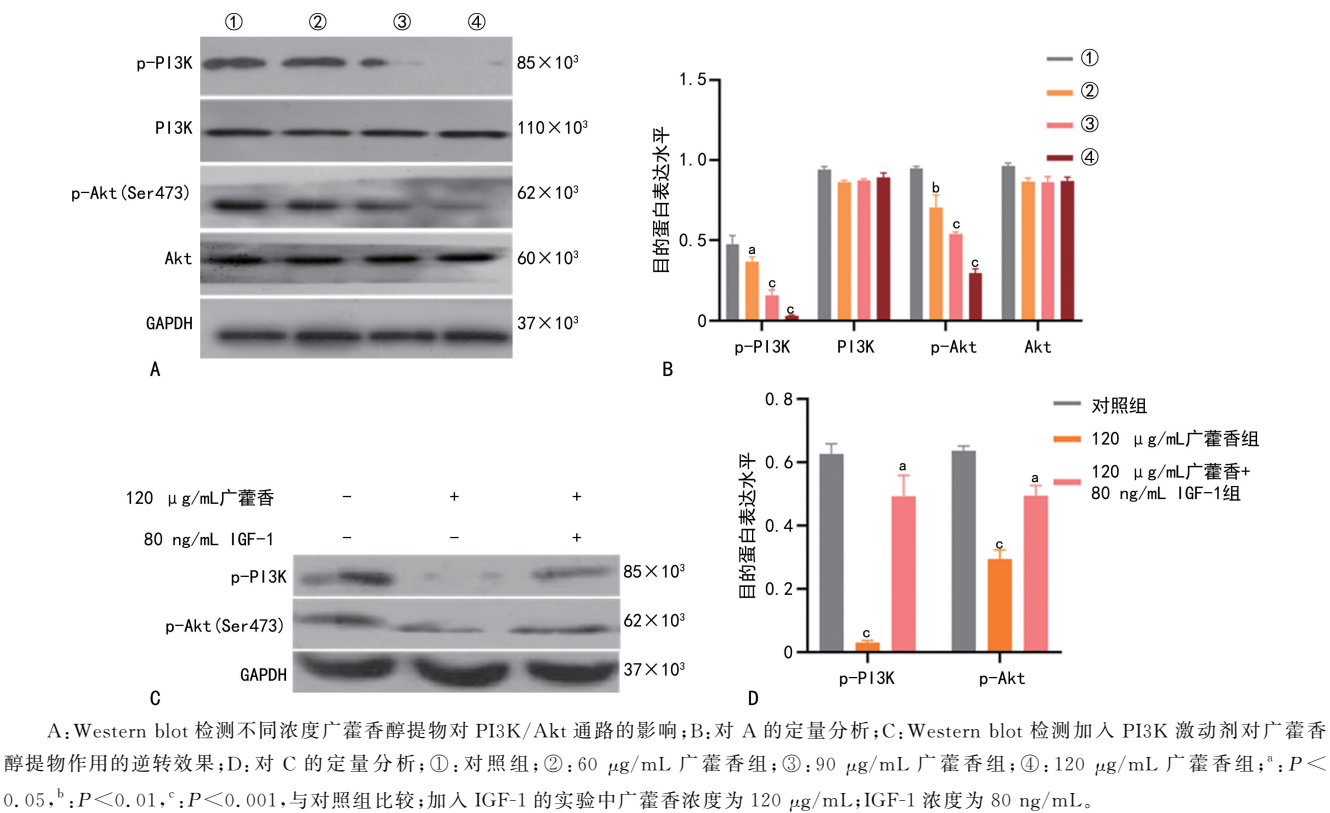


图 9 不同浓度广藿香对胶质瘤 U87 细胞 PI3K/Akt 通路的影响

3 讨 论

胶质瘤是神经系统最常见的恶性肿瘤,占颅内肿瘤的 45%~50%,其具有病情进展快、恶性程度高、难以完全手术切除、易复发等特点,是最难治疗的恶性肿瘤之一^[13]。我国传统中医药在治疗肿瘤方面有其独特的优势和特点,在现代肿瘤治疗中发挥着十分重要的作用。广藿香是一种中药材,为唇形科植物广藿香的地上部分,具有芳香化浊、和中止呕、发表解暑的功效^[14],现代药理研究发现具有抗菌^[15]、抗炎^[16]、增强免疫力^[17]的功能。近期研究发现,广藿香提取物在抗肿瘤研究中也起到积极作用,但在抗胶质瘤方面还未见研究。本研究使用网络药理学联合细胞实验探讨广藿香抗胶质瘤潜在的作用机制。

网络药理学是一门基于系统生物学理论的学科,通过分析生物系统的网络,选取特定的信号节点进行多靶点药物分子设计^[18],与中医药的整体理念相一致^[19]。网络药理学强调信号通路的多通道调控^[20],利用分子对接技术提高药物的治疗效果,降低毒副作用,从而提高新药临床试验的成功率,节省相关药物研发成本^[21]。本研究通过挖掘 TCMSP、TCMID、GeneCards、OMIM 等数据库,筛选得到“广藿香”的有效活性成分包括邻苯二甲酸二异辛酯、芫花素、5-羟基-7,4'-二甲氧基黄酮、尼泊尔鸢尾素、菲酮、槲皮素-7-O- β -D-葡萄糖苷、刺五加提取物、常春藤皂苷元和槲皮素等,现代药理研究发现这些活性成分具有抗菌、抗炎、调节肠胃功能、抗氧化、抗肿瘤及调节免疫等^[22-23]

作用。PPI 网络分析表明,广藿香可能通过 Akt1、JUN、MAPK、RELA、IL-6、EGFR 等潜在靶点影响胶质瘤。这些潜在靶点均与肿瘤细胞增殖相关,可以考虑作为治疗胶质瘤的预测靶点。GO 功能和 KEGG 通路富集分析表明,广藿香治疗胶质瘤的作用靶标主要富集在 PI3K/Akt、AGE/RAGE、IL-7、HIF-1 和 TNF 等多条信号通路中。其中,生物信息学预测上,许多作用靶标也富集在 PI3K/Akt 通路中,PI3K/Akt 通路是肿瘤发生、发展过程中的关键调控通路,在肿瘤细胞恶性程度及耐药方面发挥着重要作用^[24-25]。因此选择 PI3K/Akt 通路进行实验验证。结果发现,广藿香醇提物可明显抑制 U87 细胞增殖及迁移及核心靶蛋白 MAPK1 及 RELA 的表达,并调控 p-Akt 和 p-PI3K 水平。

综上所述,本研究基于网络药理学从多方面、多层次深入研究广藿香治疗胶质瘤的活性成分、潜在靶点和作用机制。细胞实验初步证明了广藿香醇提物对胶质瘤 U87 细胞的增殖和迁移有抑制作用。PI3K/Akt 通路可能是广藿香治疗胶质瘤的关键通路。本研究结果将为广藿香治疗胶质瘤的基础实验和临床应用提供理论依据。

参考文献

- [1] 韩庆亮,张慧,杜康,等.基于网络药理学和体外实验分析莪术醇抗胶质瘤的作用机制[J].包头医学院学报,2023,39(11):6-13.
- [2] JIAPAER S,FURUTA T,TANAKA S,et al. Potential strategies overcoming the temozolomide resistance for glioblastoma[J]. *Neurol Med Chir (Tokyo)*,2018,58(10):405-421.
- [3] 罗明明,张晖,郭方曦,等.基于网络药理学和分子对接探讨黄芪治疗胶质瘤的有效成分和作用机制[J].赣南医学院学报,2023,43(10):993-1004.
- [4] 曹扶胜,刘经健,杨洋,等.基于网络药理学与分子对接探讨广藿香抗肝癌作用机制[J].现代药物与临床,2024,39(7):1739-1746.
- [5] SU J Y,LUO X,ZHANG X J,et al. Immunosuppressive activity of pogostone on T cells: blocking proliferation via S phase arrest[J]. *Int Immunopharmacol*,2015,26(2):328-337.
- [6] 刘经健,冉凤英,杨光义,等.广藿香酮对人宫颈癌 SiHa 细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭作用的研究[J].实用药物与临床,2022,25(8):673-677.
- [7] CAO Z X,YANG Y T,YU S,et al. Pogostone induces autophagy and apoptosis involving PI3K/Akt/mTOR axis in human colorectal carcinoma HCT116 cells[J]. *J Ethnopharmacol*,2017,202:20-27.
- [8] 侯坤,王振飞.广藿香醇下调 PD-L1 的表达对人胃癌细胞抗肿瘤作用的研究[J].河北医药,2023,45(5):645-650.
- [9] 孙华威,梅梅,陈颖,等.广藿香提取物对子宫内膜癌细胞相关耐药基因表达及紫杉醇耐药性的影响[J].广西医学,2018,40(16):1840-1843.
- [10] LV S,WANG Q,ZHANG X,et al. Mechanisms of multi-omics and network pharmacology to explain traditional chinese medicine for vascular cognitive impairment: a narrative review[J]. *Phytomedicine*,2024,123:155231.
- [11] HOPKINS A. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. *Nat Chem Biol*,2008,4(11):682-690.
- [12] 解静,高杉,李琳,等.网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J].中草药,2019,50(10):2257.
- [13] 孟昭阳,赵娟,朱琴芳,等.基于网络药理学和细胞实验探讨华蟾素注射液抗结直肠癌的作用机制[J].中国中药杂志,2024,37(5):110-118.
- [14] LI D,XING Z,YU T,et al. Pogostone attenuates adipose tissue inflammation by regulating the adipocytemacrophage crosstalk via activating SIRT1[J]. *Food Funct*,2022,13(22):11853-11864.
- [15] 马川,彭成,李馨蕊,等.广藿香化学成分及其药理活性研究进展[J].成都中医药大学学报,2020,43(1):72-80.
- [16] 何毅豪,汪颖舒,杜瑶瑶,等.网络药理学整合巨噬细胞差异基因揭示广藿香油对炎症性肠病的治疗机制[J].药学学报,2021,56(12):3473-3483.
- [17] 李楚,荆文光,莫小路,等.广藿香化学成分和药理作用研究进展及潜在质量标志物预测分析[J].中国药学杂志,2023,58(11):954-965.
- [18] LUO T T,LU Y,YAN S K,et al. Network pharmacology in research of chinese medicine formula: methodology, application and prospective[J]. *Chin J Integr Med*,2020,26(1):72-80.
- [19] 曹扶胜,刘经健,杨洋,等.基于网络药理学与分子对接探讨广藿香抗肝癌作用机制[J].现代药物与临床,2024,39(7):1739-1746.
- [20] 侯坤,王振飞.基于网络药理学和分子对接研究广藿香治疗胃癌的作用机制[J].肿瘤药学,2022,12(2):173-182.