

柴芪益肝颗粒改善肝细胞癌的作用机制预测及验证^Δ

马贵萍*, 张远杰, 周怡驰, 吕锦珍, 王聪慧, 卢芬萍, 刘博文, 冉云, 胡世平[¶][北京中医药大学深圳医院(龙岗)中心实验室, 广东深圳 518172]

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)05-0620-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.05.12



摘要 **目的** 预测柴芪益肝颗粒改善肝细胞癌(HCC)的作用机制,并进行验证。**方法** 采用网络药理学方法预测柴芪益肝颗粒改善HCC的信号通路。采用腋下注射肝癌细胞H22的方法构建肝癌移植瘤模型小鼠,将造模成功的小鼠随机分为模型组(生理盐水)、索拉非尼组(阳性对照,50 mg/kg)和柴芪益肝颗粒低、中、高剂量组(24.83、49.66、99.32 g/kg),每组10只。各组小鼠灌胃相应药液或生理盐水,每日1次,连续14 d。末次给药后,观察小鼠肿瘤组织病理学形态,采用免疫组化法检测小鼠肿瘤组织中细胞核增殖抗原Ki-67表达,采用Western blot法检测小鼠肿瘤组织中上皮间质转化[N-钙黏蛋白(N-cadherin)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、基质金属蛋白酶7(MMP7)]和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路[p38 MAPK、磷酸化p38 MAPK、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)、磷酸化JNK、细胞外调节蛋白激酶1/2(ERK1/2)、磷酸化ERK1/2]相关蛋白表达。**结果** 网络药理学结果显示,代谢通路、癌症通路、MAPK信号通路等可能是柴芪益肝颗粒改善HCC的关键信号通路。动物实验验证结果显示,模型组小鼠肿瘤组织中肿瘤细胞密集、生长状态旺盛;与模型组比较,柴芪益肝颗粒高剂量组小鼠肿瘤组织中肿瘤细胞密度降低,肿瘤组织中Ki-67、N-cadherin、MMP7、Vimentin蛋白表达水平和ERK1/2、JNK蛋白磷酸化水平均显著降低($P<0.05$),E-cadherin蛋白表达水平显著升高($P<0.05$),p38 MAPK蛋白磷酸化水平升高但差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 柴芪益肝颗粒可通过调控MAPK信号通路,抑制上皮间质转化,从而抑制肿瘤细胞侵袭和转移,进而发挥改善HCC的作用。

关键词 柴芪益肝颗粒;肝细胞癌;MAPK信号通路;上皮间质转化;网络药理学

Prediction and verification of the mechanism of Chaqi yigan granules improving hepatocellular carcinoma

MA Guiping, ZHANG Yuanjie, ZHOU Yichi, LYU Jinzhen, WANG Conghui, LU Fenping, LIU Bowen, RAN Yun, HU Shiping[Central Laboratory, Shenzhen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine (Longgang), Guangdong Shenzhen 518172, China]

ABSTRACT **OBJECTIVE** To predict and validate the mechanisms of Chaqi yigan granules (CQYG) improving hepatocellular carcinoma (HCC). **METHODS** The signaling pathways of CQYG intervention in HCC were predicted using network pharmacology. A mice model of transplanted hepatocellular carcinoma was established by injecting H22 hepatoma cells into the axilla. Successfully modeled mice were randomly divided into model group (normal saline), sorafenib group (positive control, 50 mg/kg), and CQYG low-, medium- and high-dose groups (24.83, 49.66, 99.32 g/kg), with 10 mice in each group. Mice in each group were administered the corresponding drug solution or normal saline intragastrically, once a day, for 14 consecutive days. After last administration, pathological morphological changes in the tumor tissues of mice were observed in each group. Immunohistochemical staining was performed to detect the expression of the nuclear proliferation antigen Ki-67 in tumor tissues of mice. Western blot assay was used to measure the expression of proteins related to epithelial-mesenchymal transition (EMT) [N-cadherin, E-cadherin, Vimentin, matrix metalloproteinase 7 (MMP7)] and the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway [p38 MAPK, phosphorylated p38 MAPK, c-Jun N-terminal kinase (JNK), phosphorylated JNK, extracellular regulated protein kinase 1/2 (ERK1/2), phosphorylated ERK1/2] in tumor tissue of mice. **RESULTS** Network pharmacology analysis revealed that metabolic pathways, pathways in cancer, and the MAPK signaling pathway were key signaling pathways through which CQYG exert their anti-hepatocellular carcinoma effects.

In animal experiments, the tumor tissues of mice in the model group exhibited dense tumor cells and vigorous growth. Compared with model group, CQYG high-dose group showed a decreased density of tumor cells in the tumor tissues of mice. Moreover, the expression levels of Ki-67, N-cadherin, MMP7 and Vimentin proteins, along with the phosphorylation levels of ERK1/2 and JNK proteins, were all significantly reduced ($P<0.05$). The expression level of E-cadherin protein was

Δ基金项目 广东省自然科学基金面上项目(No.2025A1515011796);广东省省企联合基金面上项目(No.2023A1515220096);深圳“医疗三名工程”项目(No.SZZYSM202311018);深圳市基础研究专项(No.JCYJ20240813165129038);深圳市龙岗区医疗卫生技术攻关项目(No.LGKCYLWS2022006)

* 第一作者 博士。研究方向:中医药防治肝细胞癌的临床与基础。E-mail:787109008@qq.com

通信作者 主任中医师,教授,博士生导师,博士。研究方向:中医药防治肝细胞癌的临床与基础。E-mail:szhushiping@21cn.com

significantly increased ($P<0.05$), the phosphorylation level of p38 MAPK protein was increased, the difference was not statistically significant ($P>0.05$). **CONCLUSIONS** CQYG can inhibit EMT by regulating the MAPK signaling pathway, thereby suppressing tumor cell invasion and metastasis and ultimately exerting a therapeutic effect in improving HCC.

KEYWORDS Chaiqi yigan granules; hepatocellular carcinoma; MAPK signaling pathway; epithelial-mesenchymal transition; network pharmacology

肝癌是全球范围内发病率和死亡率均位居前列的恶性肿瘤之一^[1]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是肝癌的主要亚型,也是我国第4大常见恶性肿瘤^[2]。目前HCC的治疗方法主要包括手术切除、肝移植、射频消融、肝动脉化疗栓塞、靶向治疗、免疫治疗等^[3],虽然这些治疗方法可以延长患者的生存时间,但容易出现肿瘤转移、复发、耐药等副作用^[4]。因此,开发低毒高效的药物,对治疗HCC具有重大意义。

中医学将HCC归属为“肝积”“癥瘕”“积聚”等范畴,认为HCC的病机多为本虚标实,以虚、瘀、痰、毒为主要病理基础^[5]。本研究团队依据多年临床经验将HCC病机归于“正虚瘀毒”,并以此研制出柴芪益肝颗粒,该方以扶正化瘀解毒为大法,方中黄芪、茯苓、甘草益气健脾;白芍、黄精相伍,滋养阴血、柔养肝体;赤芍、丹参、鳖甲活血化瘀、软坚散结;茵陈、山豆根、垂盆草清热利湿、解毒,又配伍柴胡引经达所、推陈致新,诸药合用,共奏“启阖运枢”之功。本研究团队前期临床研究发现,化学药联合柴芪益肝颗粒可有效提高HCC患者5年生存率和5年无进展生存率,且服用柴芪益肝颗粒时间越长的患者获益越大,这提示柴芪益肝颗粒可有效改善HCC患者的生存结局^[6]。然而,柴芪益肝颗粒改善HCC的作用机制尚不明确。网络药理学是中医药现代化研究的重要工具,可系统揭示中药复方“多成分-多靶点-多通路”的作用特征。基于此,本研究以HCC为研究对象,采用网络药理学方法预测柴芪益肝颗粒改善HCC的作用机制,并结合动物实验进行验证,以期明确柴芪益肝颗粒改善HCC的作用机制提供实验依据,也为柴芪益肝颗粒的临床应用提供参考。

1 网络药理学预测柴芪益肝颗粒改善HCC的作用机制

1.1 柴芪益肝颗粒的靶点预测

借助中药系统药理学分析平台和 herb 数据库(<http://herb.ac.cn/>),以黄芪、茯苓、甘草、黄精、柴胡、白芍、赤芍、丹参、鳖甲、茵陈、山豆根、垂盆草为关键词检索柴芪益肝颗粒中各药材的化学成分;然后根据口服生物利用度 $\geq 30\%$ ^[7]、类药性 ≥ 0.18 ^[8],筛选出柴芪益肝颗粒中符合条件的活性成分;于 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)检索符合条件的活性成分,提取其 SMILES 编号并保存为 SDF 文件,借助 Swiss Target Prediction 数据库(<https://www.swisstargetprediction.ch/>),采用反向分子对接原理对化合物 2D/3D 结构进行

潜在靶点预测。结果显示,柴芪益肝颗粒中共检索出活性成分 235 个,共预测出 1 085 个靶点。

1.2 HCC 靶点预测

以“hepatocellular carcinoma”为关键词,在 Disgenet 数据库(<https://www.disgenet.org/>)、OMIM 数据库(<https://omim.org/>)和 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)中收集与HCC相关的疾病靶点。结果显示,在 Disgenet 数据库、OMIM 数据库和 Gene Cards 数据库分别收集到 HCC 靶点 150、193、11 345 个,去除重复后,共得到 11 503 个靶点。

1.3 PPI 网络的构建

将HCC相关靶点和柴芪益肝颗粒相关靶点的基因数据导入在线韦恩图(<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es>),以得到二者的交集基因;再将这些基因导入 String 数据库,生物种类设定为“homo sapiens”,置信度得分设定为 0.900,再利用 Multiple proteins 构建蛋白质互作网络(protein-protein interaction, PPI)。结果显示,柴芪益肝颗粒与HCC的PPI网络共包含 849 个节点、21 032 条边。

1.4 GO 和 KEGG 富集分析

将柴芪益肝颗粒靶点与HCC靶点相互映射得到的结果导入在线软件 David(<https://david.ncifcrf.gov/>)中,输入靶基因名称列表并限定物种为人,设定 $P<0.05$,从而进行基因本体(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析。结果显示,GO 富集分析中涉及生物学过程共 1 290 条、生物功能共 309 条、细胞组分共 143 条,其中生物学过程主要包括蛋白磷酸化、信号转导和炎症反应等,生物功能主要涉及蛋白结合、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)结合、相同蛋白结合等,细胞组分涉及细胞质基质、细胞质和质膜等;KEGG 富集分析共涉及 192 条信号通路,主要包括代谢通路、癌症通路、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)信号通路等,其中 MAPK 信号通路的富集程度较强(见图 1),且研究发现,MAPK 信号通路在肝癌的发生发展中具有重要作用^[9],通过调节 MAPK 信号通路可以抑制肿瘤细胞转移及上皮间质转化^[10],故本研究选择该通路进行动物实验验证。

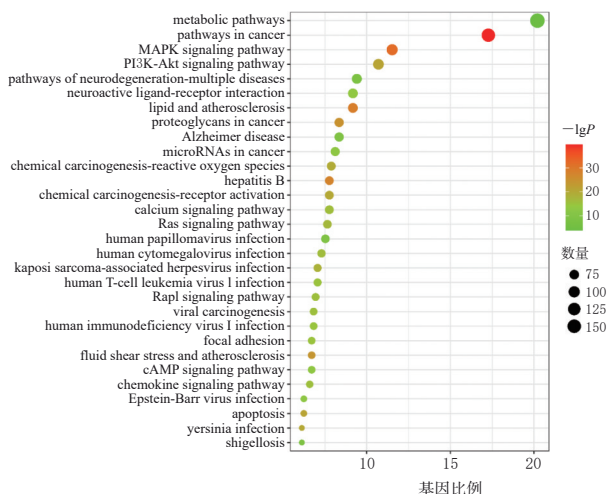


图1 KEGG富集分析图

2 动物实验验证柴芪益肝颗粒改善HCC的作用机制

2.1 材料

2.1.1 主要仪器

FDE30086FV-ULTS型超低温冰箱、Multiskan FC型酶标仪购自美国Thermo Fisher Scientific公司, 5430R型高速冷冻离心机购自德国Eppendorf公司, iBright FL1500型蛋白组学分子成像系统购自美国Invitrogen公司, Bullet Blender Storm Pro型快速高效组织细胞破碎仪购自北京百晶生物技术有限公司, Milli-Q Direct Q5型超纯水系统购自法国Millipore公司。

2.1.2 主要药品与试剂

柴芪益肝颗粒购自北京中医药大学深圳医院(龙岗)中药房; 1640培养基、青霉素-链霉素双抗、磷酸盐缓冲液(PBS)(批号分别为C11875500BT、15140-122、C10010500BT)购自美国Gibco公司; 胎牛血清(批号F7524)购自美国Sigma公司; 兔源N-钙黏蛋白(N-cadherin)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、基质金属蛋白酶7(matrix metalloproteinase 7, MMP7)、p38 MAPK、磷酸化p38 MAPK(phosphorylated p38 MAPK, p-p38 MAPK)、细胞核增殖抗原Ki-67、细胞外调节蛋白激酶1/2(extracellular signal-regulated kinases 1/2, ERK1/2)、磷酸化ERK1/2(phosphorylated ERK1/2, p-ERK1/2)、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、磷酸化JNK(p-JNK)、GAPDH抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(批号分别为22018-1-AP、20874-1-AP、10366-1-AP、10374-2-AP、14064-1-AP、28796-1-AP、27309-1-AP、11257-1-AP、80031-1-RR、66210-1-Ig、80024-1-RR、10494-1-AP、SA00001-2)均购自美国Proteintech公司; 苏木素-伊红(HE)试剂盒(批号G1076)购自武汉赛维尔生物科技有限公司; 索拉非尼(批号S5080)购自北京索莱宝科技有限公司。

2.1.3 实验动物与细胞

本研究选用SPF级健康雄性昆明小鼠, 共50只, 鼠龄4~6周, 体重(20±2)g, 小鼠均购自广东省医学实验动物中心, 动物生产许可证号为SCXK(粤)2022-0002。所有小鼠饲养于深圳市药品检验研究院动物实验室, 饲养条件控制为温度20~24℃、相对湿度50%~60%、12 h光照/黑暗循环。本实验方案经北京中医药大学深圳医院(龙岗)实验动物伦理委员会批准(批准号为KY-2023-047)。

小鼠肝癌细胞H22购自广州剪刀手基因科技有限公司。

2.2 方法

2.2.1 造模、分组与给药

选取处于指数生长期的H22细胞, 将细胞密度标准化为 1×10^7 个/mL, 制备成细胞悬液。随后, 采用皮下注射法在50只小鼠左腋下接种H22细胞悬液, 每只小鼠注射剂量为0.2 mL, 以构建肝癌移植瘤小鼠模型。接种后5~7 d, 若在小鼠左腋下检测到黄豆粒大小的结节, 即确认模型复制成功。本次实验中, 50只小鼠的造模成功率100%。

采用随机数字表法将造模成功的小鼠分为5组, 分别为模型组、索拉非尼组(50 mg/kg, 阳性对照, 该剂量基于临床等效剂量换算)和柴芪益肝颗粒低、中、高剂量组(24.83、49.66、99.32 g/kg, 其中低剂量为临床等效剂量), 每组10只。各给药组小鼠灌胃相应药液, 灌胃量为1.0 mL/g, 模型组小鼠灌胃等体积生理盐水, 每天1次, 连续14 d。

2.2.2 小鼠肿瘤组织病理学形态观察

末次给药24 h后, 各组小鼠禁食不禁水, 以1%戊巴比妥钠溶液(50 mg/kg)腹腔注射麻醉, 无菌剥离腋下肿瘤组织并保存备用。取适量肿瘤组织经4%多聚甲醛固定、梯度乙醇脱水、二甲苯透明后进行石蜡包埋、切片; 取部分切片经脱蜡复水、HE染色、中性树胶封片后, 置于光学显微镜下观察肿瘤组织病理学形态并采集典型视野图像。

2.2.3 小鼠肿瘤组织中Ki-67蛋白表达检测

取“2.2.2”项下切片(每组取3只小鼠的切片)置于二甲苯中脱蜡, 再进行梯度乙醇脱水; 经抗原修复后, 以10%山羊血清封闭, 室温孵育15 min; 滴加Ki-67一抗, 于4℃孵育过夜; 以PBS洗涤后加入相应二抗, 室温孵育2 h; 以PBS洗涤后加入链霉亲和素-过氧化物酶复合物于37℃孵育30 min, 再滴加DAB显色液孵育8 min; 以PBS洗涤后加入苏木素染液复染1 min, 自来水冲洗后, 以盐酸乙醇分化30 s, 再进行梯度乙醇脱水; 最后用中性树脂胶封片, 置于显微镜下观察阳性表达(呈棕色)并采集图像, 采用Image J软件对阳性面积占比进行定量分析, 阳性面积占比越高, Ki-67蛋白表达水平越高。

2.2.4 小鼠肿瘤组织中上皮间质转化和MAPK信号通路相关蛋白表达检测

取“2.2.2”项下各组3只小鼠的肿瘤组织50 mg,加入预冷的RIPA裂解液以及蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂进行超声裂解,提取总蛋白;采用BCA法检测蛋白浓度,并将蛋白进行变性处理;取变性后蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,经转膜、封闭后,加入N-cadherin、E-cadherin、Vimentin、MMP7、p-p38 MAPK、p38 MAPK、JNK、p-JNK、ERK1/2、p-ERK1/2、GAPDH一抗(稀释度均为1:1 000),于4℃孵育过夜;以TBST洗涤后加入相应二抗(稀释度为1:3 000),室温孵育1 h;以TBST洗涤后,加入ECL试剂进行显影,经凝胶成像系统成像后,采用Image J软件分析蛋白灰度值。以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平;以p-p38 MAPK与p38 MAPK、p-JNK与JNK、p-ERK1/2与ERK1/2的表达水平比值,表示p38 MAPK、JNK、ERK1/2蛋白的磷酸化水平。

2.3 统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行统计分析。数据服从正态分布时以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐时组间两两比较采用LSD-*t*检验,方差不齐时组间两两比较采用Dunnett's *T*3检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2.4 结果

2.4.1 柴芪益肝颗粒对小鼠肿瘤组织病理学形态的影响

模型组小鼠肿瘤组织中肿瘤细胞密集,形态相对一致,核大深染,未见明显坏死区域,提示肿瘤细胞较为活跃,生长状态旺盛。与模型组相比,索拉非尼组和柴芪益肝颗粒各剂量组小鼠肿瘤组织中肿瘤细胞密度降低,坏死区域逐渐增多且范围扩大。结果见图2。

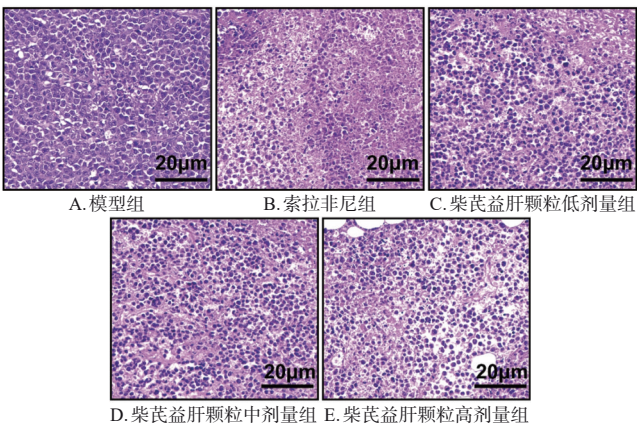


图2 各组小鼠肿瘤组织的病理学形态观察结果(HE染色)

2.4.2 柴芪益肝颗粒对小鼠肿瘤组织中Ki-67蛋白表达的影响

与模型组比较,索拉非尼组和柴芪益肝颗粒各剂量组小鼠肿瘤组织中Ki-67蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图3。

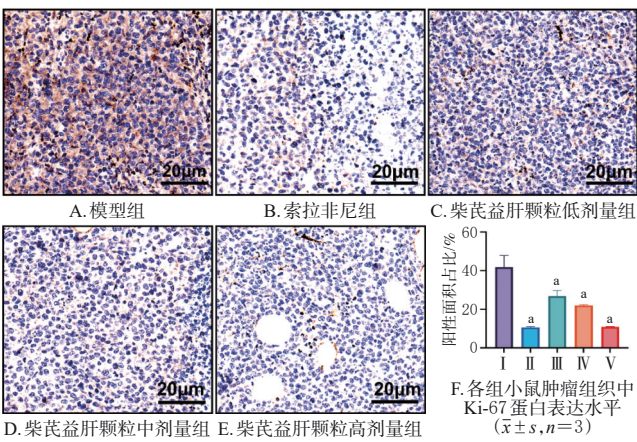


图3 各组小鼠肿瘤组织中Ki-67蛋白的表达情况

2.4.3 柴芪益肝颗粒对小鼠肿瘤组织中MAPK信号通路相关蛋白表达的影响

与模型组比较,索拉非尼组和柴芪益肝颗粒高剂量组小鼠肿瘤组织中ERK1/2、JNK蛋白磷酸化水平均显著降低($P<0.05$);索拉非尼组和柴芪益肝颗粒各剂量组小鼠肿瘤组织中p38 MAPK蛋白磷酸化水平均升高,但差异无统计学意义($P>0.05$)。结果见图4。

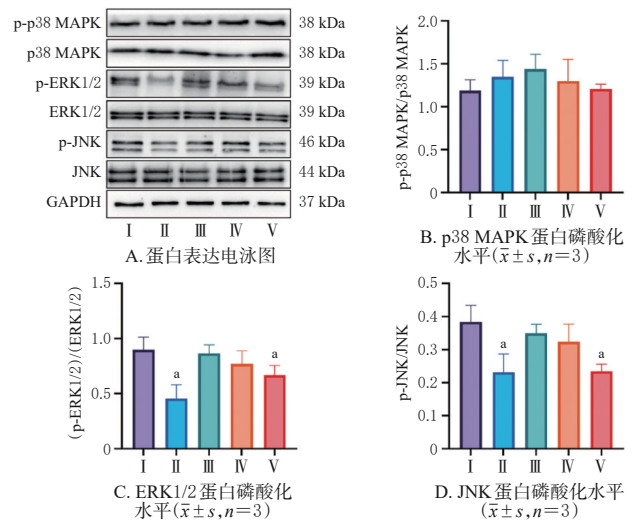
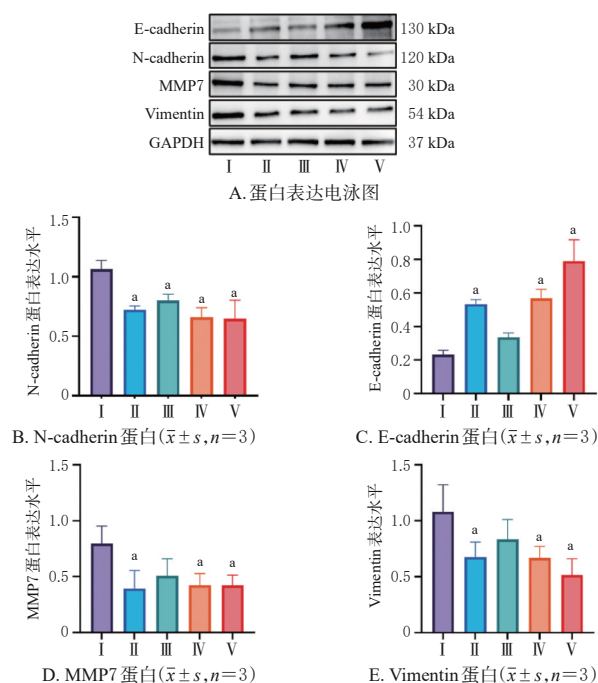


图4 各组小鼠肿瘤组织中MAPK信号通路相关蛋白的表达情况

2.4.4 柴芪益肝颗粒对小鼠肿瘤组织中上皮间质转化相关蛋白表达的影响

与模型组比较,索拉非尼组和柴芪益肝颗粒各剂量组小鼠肿瘤组织中N-cadherin、MMP7、Vimentin蛋白表达水平(柴芪益肝颗粒低剂量组MMP7、Vimentin蛋白表达水平除外)均显著降低($P<0.05$),索拉非尼组和柴芪益肝颗粒中、高剂量组小鼠肿瘤组织中E-cadherin蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。结果见图5。



I: 模型组; II: 索拉非尼组; III: 柴芪益肝颗粒低剂量组; IV: 柴芪益肝颗粒中剂量组; V: 柴芪益肝颗粒高剂量组; a: 与模型组比较, $P<0.05$ 。

图5 各组小鼠肿瘤组织中上皮间质转化相关蛋白的表达情况

3 讨论

HCC作为全球高发的恶性肿瘤之一,其高转移率、高复发率及治疗耐药性一直是临床治疗的主要难题。中医药在恶性肿瘤治疗中秉持整体观念与辨证论治原则,通过多成分、多靶点、多通路协同作用发挥疗效,已成为HCC治疗的重要组成部分^[11]。柴芪益肝颗粒是本研究团队基于多年临床经验,针对HCC的核心病机自拟的中药复方。前期临床研究已证实,化学药联合柴芪益肝颗粒可提高HCC患者的5年生存率和5年无进展生存率^[6]。然而,柴芪益肝颗粒改善HCC的作用机制尚不明确。基于此,本研究采用网络药理学和动物实验共同研究柴芪益肝颗粒改善HCC的作用机制。

本文网络药理学研究结果显示,柴芪益肝颗粒改善HCC的生物学过程主要包括蛋白磷酸化、信号转导和炎症反应等,生物功能主要涉及蛋白结合、ATP结合、相同蛋白结合等,细胞组分涉及细胞质基质、细胞质和质膜

等;改善HCC的信号通路主要涉及代谢通路、癌症通路、MAPK信号通路、PI3K/Akt信号通路等。研究发现,MAPK信号通路是细胞内重要的信号转导网络,可通过ERK1/2、JNK、p38 MAPK等亚家族介导的三级激酶级联反应,调控细胞增殖、凋亡、迁移及上皮间质转化等多种生物学过程^[12-13],其异常激活在HCC的发生发展中起关键作用^[9]。相关研究发现,ERK1/2激活后可通过抑制糖原合酶激酶3 β 诱导MMP表达,从而促进细胞外基质降解及肿瘤侵袭^[14];JNK则可通过激活转录因子c-Jun调控上皮间质转化相关基因表达,增强肿瘤细胞迁移能力^[15];p38 MAPK过度激活与肿瘤细胞侵袭、迁移以及上皮间质转化密切相关^[16]。这提示柴芪益肝颗粒可能通过调控MAPK信号通路发挥改善HCC的作用。

Ki-67是一种与细胞增殖相关的核抗原,其阳性表达越高,细胞的增殖活性越强。本研究动物实验结果显示,经柴芪益肝颗粒干预后,小鼠肿瘤组织中Ki-67蛋白表达水平降低,这提示柴芪益肝颗粒对肿瘤细胞的增殖具有明显的抑制作用。上皮间质转化是肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力的关键环节^[17],可受MAPK信号通路调控^[18],其核心特征为上皮标志物E-cadherin表达下调(可导致细胞间黏附力下降),间充质标志物N-cadherin、Vimentin(可增强细胞运动能力)及MMP7(可降解细胞外基质,促进细胞侵袭、转移)等表达上调^[19]。本研究结果显示,经高剂量柴芪益肝颗粒干预后,小鼠肿瘤组织中ERK1/2、JNK蛋白磷酸化水平和N-cadherin、MMP7、Vimentin蛋白表达水平均显著降低,E-cadherin蛋白表达水平均显著升高;然而,经高剂量柴芪益肝颗粒干预后,小鼠肿瘤细胞中p38 MAPK蛋白磷酸化水平变化无统计学意义,这可能与HCC的病理亚型特异性、药物作用的剂量依赖性以及信号通路间的交叉调控等有关,后续仍需进一步深入研究。以上结果仍提示,柴芪益肝颗粒可能通过调控MAPK信号通路,抑制上皮间质转化,从而抑制肿瘤细胞侵袭和转移,进而发挥改善HCC的作用。

本研究虽然明确了柴芪益肝颗粒改善HCC的作用机制,但仍存在一定局限性:(1)网络药理学筛选结果受数据库数据完整性及更新速度限制,可能遗漏部分潜在活性成分、靶点及通路,且预测结果仅为理论推测;(2)动物实验未设置MAPK信号通路特异性抑制剂对照组,无法直接证实MAPK信号通路是柴芪益肝颗粒改善HCC的必然通路,机制验证的严谨性仍有待提升;(3)未明确柴芪益肝颗粒中发挥核心作用的活性成分,难以阐明其具体的物质基础。后续研究可从以下3个方面进行改进:(1)整合多数据库信息并结合转录组学、蛋白质组学技术,扩大靶点及信号通路筛选范围,减少数据库偏

倚;(2)引入MAPK信号通路抑制剂,对比柴芪益肝颗粒单独处理与柴芪益肝颗粒+抑制剂联合处理的效果差异,明确MAPK信号通路的介导作用;(3)采用体外细胞实验筛选柴芪益肝颗粒中的关键活性成分,深入探讨活性成分对MAPK信号通路的调控作用。

综上所述,本研究通过网络药理学与动物实验相结合的方法,证实了柴芪益肝颗粒可通过调控MAPK信号通路,抑制上皮间质转化,从而抑制肿瘤细胞侵袭和转移,进而发挥改善HCC的作用。

参考文献

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3):229-263.
- [2] HAN B F, ZHENG R S, ZENG H M, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022[J]. *J Natl Cancer Cent*, 2024, 4(1):47-53.
- [3] DOPAZO C, SØREIDE K, RANGELOVA E, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2024, 50(1):107313.
- [4] FENG F, ZHAO Y. Hepatocellular carcinoma: prevention, diagnosis, and treatment[J]. *Med Princ Pract*, 2024, 33(5):414-423.
- [5] 童光东,王宇新,邢宇锋,等.从“虚、毒、瘀、积”论慢性乙型肝炎及相关肝硬化、肝癌的治疗[J]. *中医杂志*, 2021, 62(16):1404-1407.
- [6] 李晓斌,苏晓鹏,马贵萍,等.柴芪益肝方治疗乙型病毒性肝炎相关性原发性肝癌正虚毒瘀证患者的临床回顾性分析[J]. *中医学报*, 2024, 39(4):845-853.
- [7] XU X, ZHANG W X, HUANG C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(6):6964-6982.
- [8] JIA C Y, LI J Y, HAO G F, et al. A drug-likeness toolbox facilitates ADMET study in drug discovery[J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25(1):248-258.
- [9] ZHOU C F, BASNET R, ZHEN C X, et al. Trimethylamine N-oxide promotes the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cell through the MAPK pathway[J]. *Discov Oncol*, 2024, 15(1):346.
- [10] KE J F, HAN W Z, MENG F W, et al. CTI-2 inhibits metastasis and epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells by modulating MAPK signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(22):12229.
- [11] 国家卫生健康委员会.原发性肝癌诊疗指南:2024年版[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2024, 10(3):17-68.
- [12] MOUSTARDAS P, ABERDAM D, LAGALI N. MAPK pathways in ocular pathophysiology: potential therapeutic drugs and challenges[J]. *Cells*, 2023, 12(4):617.
- [13] CARGNELLO M, ROUX P P. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2011, 75(1):50-83.
- [14] LI M, LI Z W, SONG J Y, et al. KLK7 involvement in thyroid papillary carcinoma cell migration and invasion by EMT via MAPK/ERK pathways[J]. *J Cancer*, 2025, 16(5):1709-1725.
- [15] SUN P H, XIA S Y, YUAN R Z, et al. TMEM176B promotes EMT via FGFR/JNK signalling in development and tumorigenesis of lung adenocarcinoma[J]. *Cancers*, 2024, 16(13):2447.
- [16] JANTA S, PRANWEERAPAIBOON K, VIVITHANAPORN P, et al. Holothurin A inhibits RUNX1-enhanced EMT in metastasis prostate cancer via the Akt/JNK and P38 MAPK signaling pathway[J]. *Mar Drugs*, 2023, 21(6):345.
- [17] KHAN A Q, HASAN A, MIR S S, et al. Exploiting transcription factors to target EMT and cancer stem cells for tumor modulation and therapy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2024, 100:1-16.
- [18] MI K, ZENG L Z, CHEN Y, et al. DHX38 enhances proliferation, metastasis, and EMT progression in NSCLC through the G3BP1-mediated MAPK pathway[J]. *Cell Signal*, 2024, 113:110962.
- [19] CELIÀ-TERRASSA T, KANG Y B. How important is EMT for cancer metastasis?[J]. *PLoS Biol*, 2024, 22(2):e3002487.

(收稿日期:2025-08-20 修回日期:2026-02-10)

(编辑:唐晓莲)