

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2021.01.017

孙杏倩, 蔡俊飞, 高家菊, 等. 基于网络药理学和文献探讨异喹啉类生物碱抗肝癌研究进展[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(1): 122-130.

SUN X Q, CAI J F, GAO J J, et al. Research Progress of Isoquinoline Alkaloids against Liver Cancer Based on Network Pharmacology and Literature[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(1): 122-130.

基于网络药理学和文献探讨异喹啉类生物碱抗肝癌研究进展

孙杏倩¹, 蔡俊飞¹, 高家菊¹, 普娟¹, 马云淑^{1,2}✉

(1. 云南中医药大学 中药学院, 云南 昆明 650500;

2. 云南省高校外用给药系统与制剂技术研究重点实验室, 云南 昆明 650500)

摘要:探索五种异喹啉类生物碱抗肝癌的作用机制。借助 TCMSP、String、venny 数据库与 WebGestalt 在线分析软件获取靶点并进行蛋白互作网络 (PPI)、基因本体 (GO)、基因相互作用 (KEGG) 功能富集分析, 利用 Cytoscape 软件构建网络。同时查阅文献并进行归纳、整理和分析得到小檗碱型中的小檗碱、双苜蓿基生物碱的粉防己碱、苯菲啉喹啉类的血根碱、吗啡烷类中的青藤碱和吡咯菲里啉中的石蒜碱等几种常见的生物碱, 根据结构作用机制阐述每一类代表性异喹啉类生物碱治疗肝癌的潜力及抗肝癌作用机制。五个活性成分共筛选得到 52 个作用靶标如 p53 (抑癌基因)、NCOA2 (核受体共激活剂 2)、IL-2 (白介素 2), 主要涉及钙离子信号通路、雌激素受体信号通路和 PI3K/Akt 信号传导途径等通路。通过网络药理学和文献收集证实异喹啉类生物碱可能参与调控 PI3K-Akt 通路等, 可以通过多靶点、多通路对肝癌产生治疗作用, 为进一步研究异喹啉类生物碱抗肝癌的临床研究提供参考和依据。

关键词: 异喹啉类生物碱; 肝癌; 网络药理学; 作用机制

中图分类号: TS201.4; R285 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2021)01-0122-09

网络首发时间: 2020-12-23 14:56:21

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.ts.20201223.1349.010.html>

Research Progress of Isoquinoline Alkaloids against Liver Cancer Based on Network Pharmacology and Literature

SUN Xing-qian¹, CAI Jun-fei¹, GAO Jia-ju¹, PU Juan¹, MA Yun-shu^{1,2}✉

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming, Yunnan 650500, China; 2. Key laboratory of external drug delivery system and preparation technology of Colleges and universities, Kunming, Yunnan 650500, China)

Abstract: To explore the anti-hepatocellular mechanism of five kinds of isoquinoline alkaloids, with the help of TCMSP, string, venny database and WebGestalt online analysis software to obtain the target and perform

收稿日期: 2020-08-21

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81673682); 云南省科技厅中医联合专项重点项目 (2018FF001-008); 云南省教育厅科学研究基金项目 (2020Y0219)

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No.81673682); Science and Technology Joint Special Key Project of traditional Chinese Medicine Yunnan Provincial Department of (No.2018FF001-008); Scientific Research Foundation Project of the Department of Education of Yunnan Province (No.2020Y0219)

作者简介: 孙杏倩, 女, 1996 年出生, 在读研究生, 研究方向为新型给药系统。E-mail: 1825342132@qq.com.

通讯作者: 马云淑, 女, 1966 年出生, 教授, 研究方向为中药药剂学。E-mail: yunshuma2@126.com.

protein interaction network (PPI), gene ontology (GO), gene interaction (KEGG) function enrichment analysis, and use Cytoscape software to construct the network. At the same time, berberine in proberberine, Tetrandrine in dibenzyl alkaloids, sanguinarine in Phenphenanthroline, sinomenine in morphine and lycopine in pyrrolidine were obtained by literature review, induction, sorting and analysis. According to the structural mechanism of action, the potential of each type of representative isoquinoline alkaloid in the treatment of liver cancer and the mechanism of anti-liver cancer were expounded. Five active ingredients were screened and 52 targets such as p53 (tumor suppressor gene), NCOA2 (nuclear receptor co-activator 2), IL-2 (interleukin 2) were obtained which mainly involved calcium ion signaling pathway, estrogen receptor signaling Pathways and PI3K/Akt signaling pathways. Through network pharmacology and literature collection, it is confirmed that isoquinoline alkaloids may be involved in the regulation of PI3K-Akt pathway, etc., and can have therapeutic effects on liver cancer through multiple targets and multiple pathways. This paper can provide reference and basis for further clinical research on the anti-liver cancer effect of isoquinoline alkaloids.

Key words: isoquinoline alkaloids; hepatocellular carcinoma; network pharmacology; action mechanism

原发性肝癌是一种恶性肿瘤,其发生和发展是一个复杂而繁琐的过程,与多种因素密切相关^[1]。研究表明,肝癌不能完全治愈且无有效预防,当前治疗肝癌的方法有原位肝移植、肝切除、消融技术、介入疗法、放射疗法、生物疗法、分子靶向疗法和中药治疗等^[2-3]。但由于局部浸润和肝内转移,肝癌术后复发已成为棘手的问题,患者的预后很差。当前治疗方法的局限性主要是对导致疾病异质性的复杂分子信号传导过程的不完全了解,在治疗肝癌的各种方法中,天然药物治疗因其高效、易取、多靶点和副作用少等优点引起了国内外研究者的关注。

网络药理学已成为一种药物靶标分析的系统方法,抗癌药物需要开展大量的基础研究和应用研究^[4-5],从系统角度和分子水平上发现中药,将研究方式从当前的“一种靶标,一种药物”模式变为新的“网络靶标,多组分”模式,建立了一种新颖的中药网络药理方法^[6]。Guo 等^[7]基于网络药理学预测小檗碱在多种癌症的预防和治疗中的多种药理作用。

异喹啉生物碱是以异喹啉或四氢异喹啉为母体的最大生物碱类,多种药理活性,如抗肿瘤、抗心律失常、镇痛、抗炎等^[8-10]。该生物碱已显示出通过多种机制发挥显著的抗肝癌作用,包括抑制增殖,诱导细胞凋亡和自噬,转移和血管生成,调节各种与癌症相关的基因及途径等^[11-12]。除了单独使用之外,发现与其他化疗药物合用能

够产生协同作用。通过网络药理学,对五种药物治疗肝癌进行筛选,并展示其潜在机制。总体来说,基于现有文献总结和网络药理学,可以解释多种药物治疗肝癌的机制,可能为进一步治疗肝癌等疾病提供启示。本文主要阐述异喹啉类生物碱在肝癌治疗方面的作用及其潜在作用机制,为肝癌的相关研究提供参考与借鉴。

1 异喹啉类生物碱基本概况

生物碱(过去称为嘌呤)是自然界中普遍存在的一类含氮碱性有机化合物,具有类碱性质,且大多具有复杂的环状结构,环中含有氮,具有显著的生物活性。异喹啉生物碱是生物碱中最重要的类型之一,迄今为止,已从小檗科、防己科、豆科、毛茛科等 10 种植物中检测到 4 000 多种异喹啉生物碱^[13]。本文根据文献报道的频率在不同类别中着重介绍以下五类生物碱:小檗碱(Berberine, BER)又称黄连素,为季铵原小檗碱类异喹啉生物碱、汉防己甲素(Tetrandrine, TET)又称粉防己碱,为双苄基异喹啉类生物碱、血根碱(Sanguinarine, SAN)为 α -萘菲啶类生物碱、青藤碱(Sinomenine, SIN)为吗啡烷类生物碱,石蒜碱(Lycorine, LYC)为吡咯菲里啶类生物碱^[14]。生物碱具有广泛的药理活性,且结构多样,越来越多的学者把目光投向了生物碱。其中以小檗碱研究肝癌的文献居多,图 1 为近几年五种异喹啉类生物碱研究肝癌的文献数量情况。

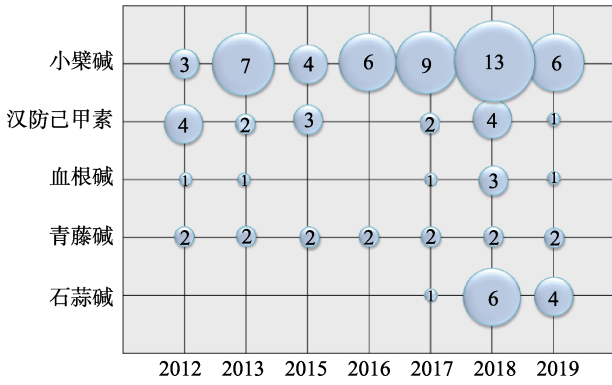


图 1 2012—2019 年五种异喹啉类生物碱研究肝癌的文献数量
Fig.1 Literature number of five isoquinoline alkaloids in liver cancer studies from 2012 to 2019

2 基于网络药理学数据库分析

2.1 异喹啉类生物碱抗癌的潜在作用靶点预测

利用 Genecard 数据库平台，检索“liver cancer”并筛选相关评分 ≥ 5 的基因，其中得到肝癌疾病的潜在靶点分别为 2 816 个，利用 R 预言绘制维恩图（见图 2），其中与肝癌相关的关键靶点基因共有 33 个。

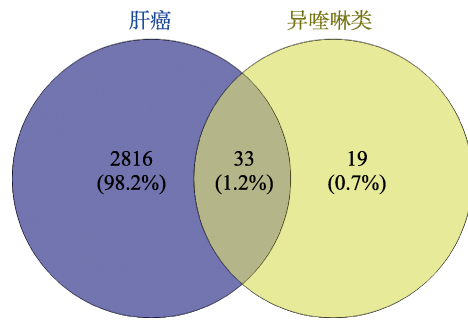


图 2 肝癌靶点基因与异喹啉生物碱靶点基因的匹配图
Fig.2 Matching of liver cancer target genes with isoquinoline alkaloid target genes

2.2 药物-活性成分-关键作用靶点网络构建分析

对上述异喹啉类生物碱 5 个主要成分进一步通过 TCMSP 数据库搜索潜在靶点 68 个，采用 Cytoscape 软件构建异喹啉生物碱-活性成分-功能-靶点网络图（见图 3），包含 58 个节点（1 个为异喹啉，5 个活性组分与 52 个靶点），组成 73 条边异喹啉类的活性成分与记忆靶点之间相互关系。靶点最多的成分是粉防己碱、节点最多的靶点的靶点是肾上腺素能受体（Recombinant Adrenergic

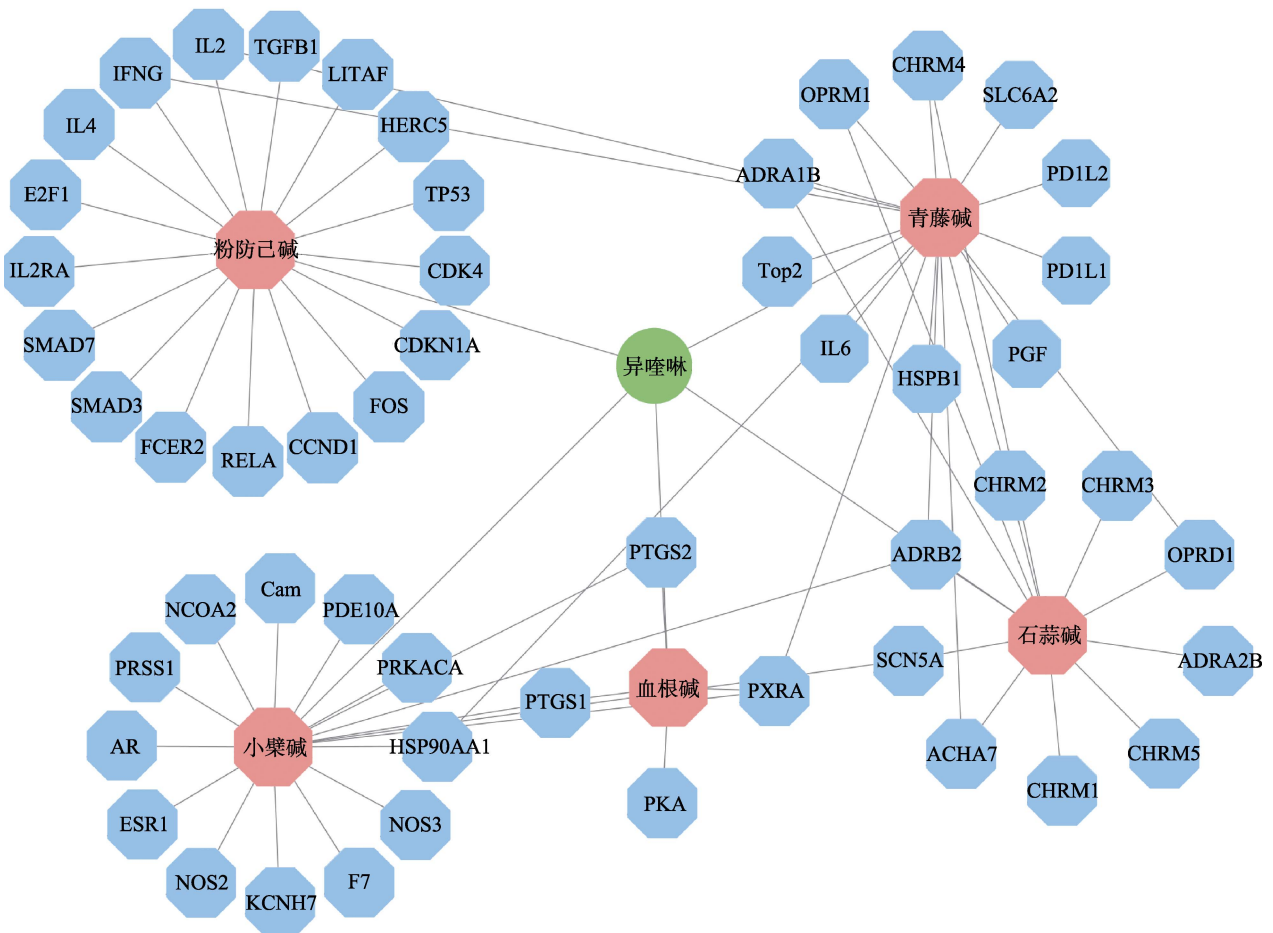


图 3 异喹啉生物碱 5 种主要成分与相关靶点的网络图

Fig.3 Network diagram of 5 main components of isoquinoline alkaloids and related targets

Receptor Beta 2, ADRB2)、类视黄醇 X 受体 (A Retinoid X Receptor, Alpha, RXRA)、烟碱型乙酰胆碱受体 (A7 Nicotinic Acetylcholine Receptor, ACHA7) 等, 提示六种活性成分通过多成分、多靶点作用来预防肝癌的发生和发展, 通过参与调控肝癌细胞增殖、分化、凋亡、炎症等过程。

2.3 关键靶点基因蛋白质相互作用网络分析

将异喹啉类五种生物碱抗肝癌治疗的 52 个潜在靶点基因导入 STRING 数据库平台, 选择物种为人, 获取蛋白质相互作用关系 (见图 4), 排除三个游离的 (无相互作用的蛋白), 该网络图共包括 28 个节点, 91 个边。其中综合数值评分 > 0.999 的相互作用蛋白有 11 个, 其中前五个蛋白分别为抑癌基因 p53 基因 (Tumor Suppressor gene, p53)、核受体共激活剂 2 (Nuclear Receptor Coactivator 2, NCOA2、白介素 2 (Interleukin-2, IL-2)、细胞周期素依赖性激酶抑制因子 1A (Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1A, CDKN1A)、细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (Cyclin Dependent Kinase 4, CDK4)。文献查阅发现, p53 是肝癌细胞增殖和凋亡等生物学过程中的重要靶标^[15]; 小檗碱和血根碱均可提高 p53 的水平, 从而抑制肿瘤细胞生长, 血根碱可通过 p53 介导的细胞增殖、凋亡等,

还可参与细胞周期蛋白酶, 来治疗肝癌^[16-17]。

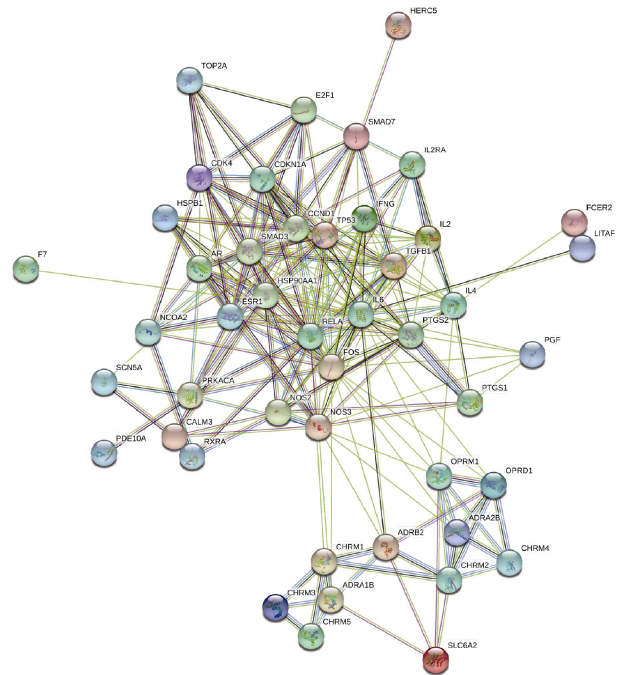


图 4 异喹啉类抗肝癌相关基因的蛋白质相互作用网络
Fig.4 Protein interaction network of isoquinoline anti-hepatocellular carcinoma genes

2.4 生物信息学分析

利用 WebGestalt 分析软件对相关靶点蛋白进行功能注释分析 (见图 5), 包含生物过程 (BP)、细胞组分 (CC) 和分子功能 (MF), 这些蛋白在

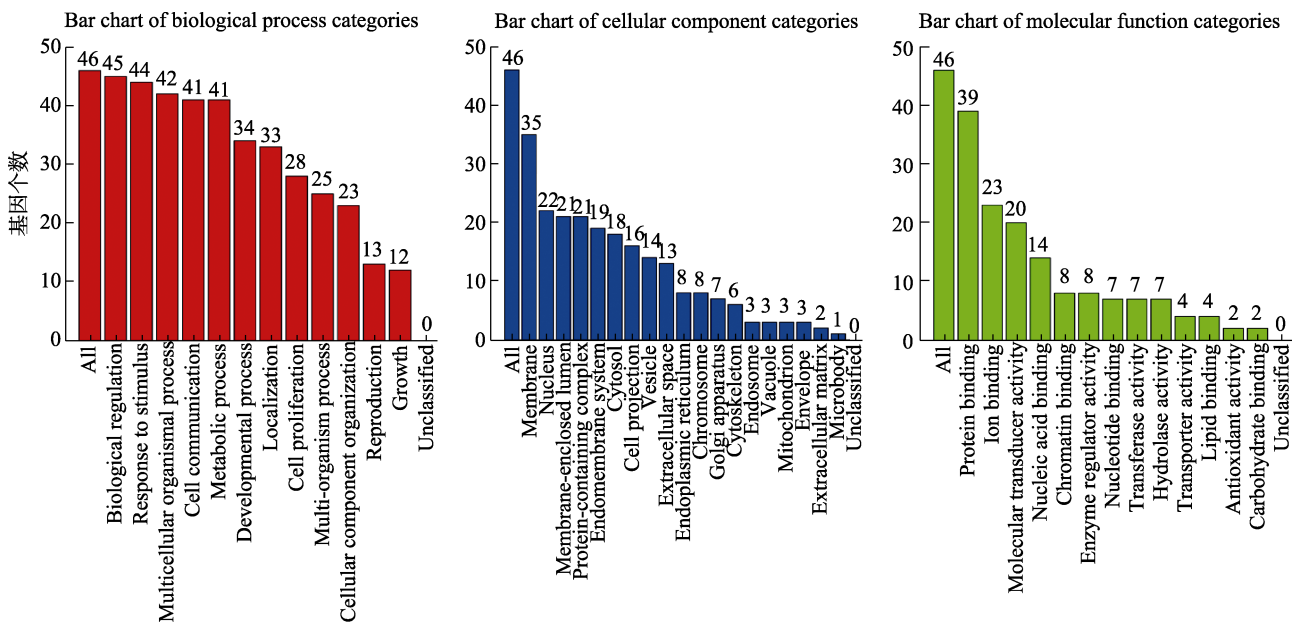


图 5 相关蛋白质靶点的 GO 富集分析

Fig.5 GO enrichment analysis of related protein targets

注: 生物过程, 细胞成分和分子功能类别分别由红色, 蓝色和绿色的条形表示, 条形图的高度表示用户列表以及类别中的 ID 数量

Note: The categories of biological processes, cell components and molecular functions are represented by red, blue and green bars respectively. The height of the bar graph indicates the number of IDs in the user list and the category

生物过程方面主要参与生物调节、刺激反应等过程；在细胞方面主要参与构成细胞膜、细胞核和腔上包膜等过程；在分子功能方面与蛋白结合，生长因子受体结合，大分子复合物结合以及蛋白结合等功能，结论五种化合物抑制肝癌生长可能与以上功能过程相关。

2.5 KEGG 通路分析

利用 WebGestalt 分析软件对相关靶点蛋白进

行 KEGG 通路富集分析发现（见图 6）异喹啉类生物碱对治疗肝癌的靶标主要与炎症性肠病、胰腺癌、慢性粒细胞白血病、Th17 细胞分化、对小细胞肺癌和非小细胞肺癌、钙离子信号通路和 PI3K/Akt 信号通路、松弛信号通路、雌激素信号通路传导途径等通路。与基础研究相互吻合，提示以上结果表明五种生物碱类可通过各通路协同发挥作用。

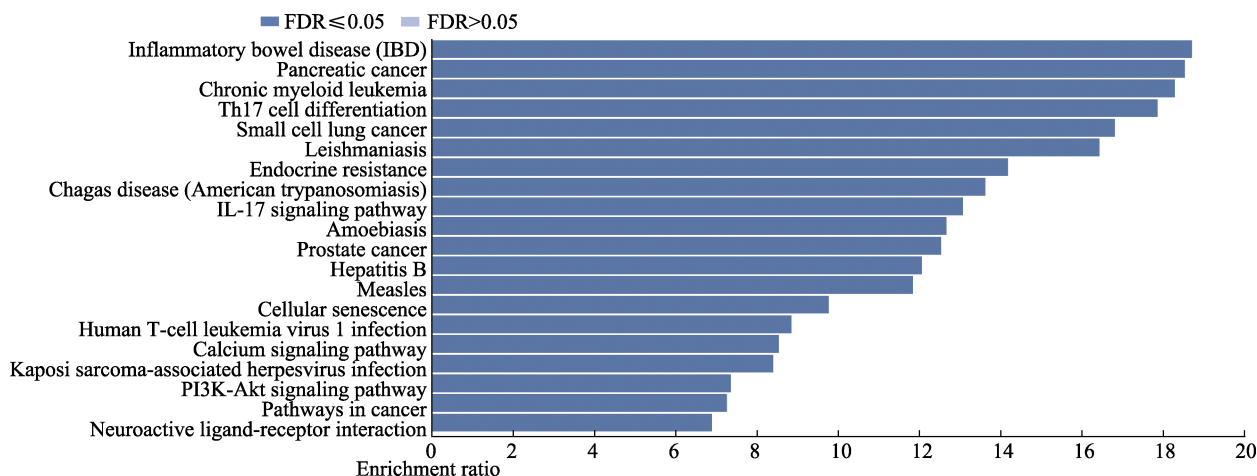


图 6 相关靶点 KEGG 通路富集分析的前 30 条通路
Fig.6 The first 30 pathways in enrichment analysis of KEGG pathways of related targets

3 基于文献分析异喹啉类生物碱抗肝癌的作用机制

3.1 诱导肿瘤细胞周期阻滞

细胞周期是包括 G₀/G₁, S 和 G₂/M 期等的生理过程，细胞增殖受细胞周期调控，细胞周期受一系列细胞周期蛋白依赖性激酶（CDKs）及其关键抑制剂的调控^[18]。研究表明小檗碱可以对多种肝癌细胞有抑制作用，用小檗碱处理 Huh-7 和 HepG2 细胞后观察到在细胞周期 G₀/G₁ 期停滞^[19]。FoxO3a（叉形头转录因子的 O 亚型，在癌症中表达常下调）和 Skp2（p45 蛋白，在许多人类癌症中表达上调）均可参与细胞增殖，促进细胞周期停滞，小檗碱可以通过 Huh-7 和 HepG2 肝癌细胞中的 Akt/FoxO3a/Skp2 轴诱导生长抑制和细胞周期停滞。张志敏等^[20]发现小檗碱可抑制肝癌 HepG2 细胞的增殖，通过上调抗增殖基因(BTG2)和下调细胞周期蛋白（CyclinD₁）。Tan 等^[21]研究发现不同剂量的小檗碱对人肝癌细胞株 HepG2 有抑制作用，采用流式细胞术发现高剂量组观察到亚 G₀ 期和 G₀/G₁ 的增加，且证明蛋白质组分析获

得的数据与我们通过流式细胞术进行细胞周期分析所获得的数据一致。血根碱能诱导 HepG2 和 SMMC-7721 细胞的 S 细胞周期停滞^[22]。

3.2 诱导细胞凋亡

细胞凋亡是细胞程序性死亡的一种形式，能有序而有效地移除受损的细胞，细胞凋亡的基本调控因子包括激活抗凋亡因子 B 淋巴细胞瘤-2（Bcl-2）等或失活促凋亡因子（即 p53 途径）^[23]。研究发现抑制 p53 表达可能会阻止小檗碱诱导的 miR-23a 的上调，当 miR-23a 被抑制时，小檗碱对肝癌细胞 G₂/M 细胞周期阻滞、细胞凋亡作用减弱和体内肿瘤生长抑制作用也将减弱^[24]。在体内外，小檗碱均可通过抑制 C-myc 基因（C-myc）抑制谷氨酰胺转运体（SLC1A5）表达、干扰谷氨酰胺代谢，从而抑制肝癌细胞的增殖^[25]。wan 等^[26]发现血根碱及其衍生物能够诱导肿瘤细胞凋亡，其可能是下调 Bcl-2 和上调 Bax（凋亡基因），抑制 DNA 拓扑异构酶 I/II 的活性，从而导致细胞凋亡。ROCK1（蛋白激酶 1）的激活在蛋氨酸诱导的线粒体凋亡中起关键作用，石蒜碱在体内能抑

制 HepG2 异种移植的肿瘤生长, 并通过线粒体依赖性途径诱导 HepG2 细胞凋亡^[27]。研究显示^[28] 石蒜碱可促进人肝癌 HepG2 细胞凋亡, 机制可能与半胱氨酸蛋白酶 (Caspase) Caspase-9、-3、Cyt-C (细胞色素 C) 表达水平的升高、Bcl-2 蛋白表达的降低有关。粉防己碱使 HepG2、Huh-7 和 PLC/PRF/5 肝细胞瘤细胞出核碎裂和细胞凋亡等特征^[29]。血根碱通过诱导活性氧 (ROS) 相关的凋亡, 以 p53 依赖性方式显著抑制 HCC 细胞增殖。血根碱诱导 HepG2 和 SMMC-7721 细胞的早期凋亡, 在体内发现血根碱 (10 mg/kg) 同样可以对肝癌生长起抑制作用, 且能明显减少 HepG2 裸鼠移植瘤模型的瘤体重量, 其机制与增加了 miR-16-2 启动子上 p53 的占有率、降低了 miR-16 靶基因的表达有关^[30]。血根碱也可通过诱导 ROS 发挥抗增殖作用, 并通过线粒体和 caspase 依赖性途径引起细胞凋亡。

3.3 诱导细胞自噬

自噬是一个由细胞质中的细胞成分介导的动态过程, 是细胞存活和细胞死亡 (自噬细胞死亡) 之间的平衡机制, 靶向自噬的治疗药物可能对癌细胞有抑制作用^[31]。葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78) 是自噬诱导剂, 在自噬调节中起主导作用。研究表明, 小檗碱可以通过激活转录因子 6 (ATF6) 裂解, 抑制泛素化和蛋白酶体降解来诱导 GRP78 表达, 从而进一步导致自噬和细胞死亡^[32]。小檗碱也可通过细胞中的 AMPK (AMP 依赖的蛋白激酶) 激活和乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 的失活来诱导 HepG2 的凋亡和自噬^[33]。粉防己碱是一种广谱有效的自噬激动剂, 在 HCC 细胞中, 低剂量的粉防己碱 (5 μ M) 诱导 (自噬体) 膜型 LC3-II 的表达, 导致酸性自噬酶体液泡 (AVOs) 的形成, 可以有效诱导多种细胞系自噬^[34]。另外, ROS 的产生在促进粉防己碱诱导的自噬中起重要作用, 能诱导的肝癌细胞凋亡以 Caspase 依赖性方式发生。

3.4 抑制肿瘤细胞侵袭转移

上皮间充质转化 (EMT) 被认为是最初可逆的生物学过程, 癌细胞中的部分 EMT 被认为可以增强其侵袭性, 产生循环的肿瘤细胞和癌细胞干细胞, 并增强对抗癌药物的抗性, 在肿瘤中影响显著^[35]。

小檗碱可能通过调控转化生长因子- β (TGF- β)/Smad 信号通路, 干预 HepG2 细胞的 EMT 进程, 抑制 HepG2 细胞的迁移和侵袭能力^[36]。KLF6 (转染抑癌基因) 在肝癌中通过丢失或突变来失控, 并且其失活可能诱发肿瘤, 小檗碱能通过抑制野生型 KLF6 的过表达, 从而抑制肝癌细胞的增殖和迁移^[37]。小檗碱通过诱导肝癌细胞中的纤溶酶原激活物抑制剂 1 (PAI-1) 表达并抑制尿激酶型纤溶酶原激活物 (uPA) 来抑制 uPA 受体, 结果表明 PAI-1 的上调和 uPA 受体的下调与小檗碱抑制 HCC 细胞的侵袭和运动有关^[38]。Id-1 (分化抑制因子) 的表达与 HCC 的增殖、转移和血管生成有关。小檗碱的治疗可以有效抑制 Id-1 表达并抑制肝细胞癌转移^[39]。转移性肿瘤抗原 1 (MTA1) 与肿瘤的侵袭和迁移有关, 通常在癌症 (例如肝癌) 中高表达。在肝癌的体内外实验中发现汉防己甲素能够通过自噬依赖抑制 Wnt / β -连接素 (β -catenin) 信号通路和降低 MTA1 表达来抑制转移^[40]。粉防己碱治疗明显降低了 MTA1 的表达, 这表明粉防己碱可以通过 MTA1 抑制 HCC 迁移。卷曲螺旋蛋白激酶 (ROCK1) 是一种多功能蛋白, 可调节各种细胞功能, 石蒜碱可激活 ROCK1, 从而影响肌动蛋白的细胞骨架动力学, 达到抗肝细胞生长和迁移的作用^[41]。

3.5 抗肿瘤血管生成

血管生成是新血管从现有血管中生长的过程, 血管生成可以通过肿瘤细胞分泌的生长因子来启动, 从而为肿瘤提供更多的氧气和营养。越来越多的临床前研究和临床试验表明, 可通过抑制血管生成来抑制肿瘤生长^[42]。血管生成靶标包括血管内皮生长因子及其受体 (VEGF/VEGFRs), 整联蛋白 (Avb3) 和基质金属蛋白酶 (MMP)。小檗碱是一种有效的抗血管生成剂, 其作用主要是通过抑制多种血管生成因子如血小板内皮细胞黏附分子 (CD31) 和 VEGF, 同时小檗碱可通过抑制炎症和血管新生, 预防非酒精性脂肪性肝炎衍生的肝细胞癌^[43]。

3.6 抑制环氧合酶 2 (COX-2)

环氧合酶 2 (COX-2) 是脂肪酸代谢中的关键酶, 在炎症部位由促炎细胞因子诱导的 COX-2 和

增强的 COX-2 诱导的前列腺素合成,可刺激癌细胞增殖,促进血管生成,抑制凋亡并增加转移潜力^[44]。花生四烯酸(AA)的代谢途径已经与多种癌症的发生和发展相关。研究发现,用小檗碱处理 HCC 细胞后,胞浆型磷脂酶 A2(cPLA2)和 COX-2 的蛋白表达水平受到剂量依赖性的显著抑制,而凋亡诱导因子(AIF)和 AA 与 PGE2 的含量比显著增加。小檗碱可通过抑制 HCC 中的 AA 代谢途径来诱导细胞凋亡^[45]。袁婉雯等^[46]发现青藤碱可以诱导肝癌细胞 HepG2 阻滞在 G₁ 期,其机制可能是抑制 COX-2 的表达、降低肿瘤细胞中 Bcl-2 蛋白的含量,或通过抑制 PI3K/AKT 信号通路,均可诱导 HepG2 细胞的凋亡。

3.7 抑制 NF- κ B 的活性

核因子 κ B(NF- κ B)蛋白家族成员的二聚体结合形成的诱导型转录因子集合的总称。该家族五个成员为(RelA, RelB, c-Rel, p50 和 p52)。在所有恶性肿瘤中, NF- κ B 以细胞类型特异性的方式起作用,激活癌细胞内的生存基因和肿瘤微环境成分中的促炎症基因, NF- κ B 的组成性激活并伴有(I κ B 蛋白) I κ B α 失调在肝癌发生中起到重要作用^[47]。实时荧光定量 PCR 和免疫荧光染色均显示小檗碱可降低 HepG2 细胞中的 NF- κ Bp65 水平, p65 的过量表达抑制了小檗碱诱导的细胞增殖,并阻止了 HepG2 细胞凋亡^[48]。

3.8 逆转肿瘤细胞多药耐药性

在化疗药中多药耐药性(MDR)仍然是治疗癌症的主要挑战,MDR 其特征是 ATP 依赖性药物外排转运蛋白的过度表达^[49]。寻找抗 MDR 活性的新化合物是解决该癌症耐药性问题的一种有效的方法。索拉非尼耐药是影响肝细胞癌患者预后的主要因素之一,索拉非尼和小檗碱组合对 SMMC-7721 和 HepG2 细胞的增殖有协同抑制作用,呈剂量依赖和时间依赖^[50]。Ki67(增殖基因)是一种增殖细胞相关的基因,化合物 HMQ1611(BCH)和小檗碱合用对 HCC 增殖和集落形成具有良好的抑制作用, BCH 通过抑制细胞周期素(Cyclin) CyclinD1、CyclinE 和蛋白激酶(Cdc2)的表达。同时, BCH 通过下调 Ki67 和 β -catenin 以及上调轴蛋白(Axin)和 p- β -catenin 来显著抑

制 SMMC-7721 异种移植肿瘤的生长。提示 BCH 和小檗碱协同用药后在体外和体内均表现出对人肝癌的潜在抗肿瘤活性,而这些活性的潜在机制取决于对 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响^[51]。刘城等^[52]研究发现青藤碱与 5-FU 联合用药能抑制肝癌细胞系 SMMC7721 的增殖,且两药联合应用时,凋亡及坏死细胞比例显著高于两药单用时,提示两药合用在抗肝癌作用中可能存在协同作用。王云等^[53]发现青藤碱与二甲双胍的协同用药对肝癌移植瘤有抑制作用,其机制可能与 TGF- β /P38 信号通路的激活有关。

3.9 增强辐射敏感性

化疗和放射疗法的同时治疗有可能为患者改善疾病有诸多益处。在药理和临床研究中,抗肿瘤剂不仅可以与其他化学治疗剂结合使用,还可以与放射线结合使用,以使细胞对放射线敏感,从而增强癌症的治疗功效。小檗碱抑制 Huh7 和 HepG2 细胞中 Nrf2(NF-E2-relatedfactor2)信号相关蛋白的表达,表明小檗碱可通过抑制 HCC 细胞中的 Nrf2 信号传导途径来增强放射敏感性^[54]。将人肝癌 HepG2 细胞用黄连素联合照射进行处理,小檗碱可显著增强 γ 射线的抗肿瘤作用,其机制通过 p38 MAPK 途径和 ROS 的产生增强了抗癌作用^[55]。蛋白酶体激活因子(PA28 γ)上调在包括肝癌在内的许多恶性肿瘤的癌变过程中起着至关重要的作用。粉防己碱可增强 HepG2 和 LM3 细胞的放射敏感性且随着粉防己碱剂量的增加,放射敏感性增强^[56]。

4 讨论


肝癌是世界上死亡率较高的最常见的浸润性肿瘤,寻找有效的药物来治疗恶性肿瘤是一个急需解决的难题。生物碱具有来源丰富、结构多变、效果显著及毒副作用小等优势,随着研究日益深入和广泛应用,异喹啉类生物碱大部分都具有抗肿瘤活性,抗肿瘤靶点和通路比较复杂多样,不同实验研究中选择的肿瘤细胞和模型区别较大,对大量基础研究数据进行阶段性回顾分析也具有一定的意义。

通过网络药理学和文献总结,构建“异喹啉类生物碱-靶点-基因-肝癌”体系,找出共同的靶

点基因,建立了蛋白互作网络,进行GO富集和KEGG富集,发现异喹啉类生物碱主要是通过钙离子和PI3K-Akt等信号通路与体内生物过程的方式治疗肝癌的,验证基于网络药理学的方法对发现生物活性化合物以及阐明作用机理的有效性,并试图在两者之间建立联系,扩展异喹啉类生物碱-肝炎体系的多分子,多靶点,多通路的作用机制,为异喹啉类生物碱治疗肝癌的具体机制克服了理论基础,为异喹啉类生物碱的进一步研究提供新的研究策略。

参考文献:

- [1] 钱宏梁,潘志强,王晓敏,等.真武汤通过PI3K-AKT-mTOR信号通路抑制H22肝癌小鼠肿瘤增长的研究[J].时珍国医国药,2018,29(9):2060-2065.
QIAN H L, PAN Z Q, WANG X M, et al. Inhibitory effect of Zhenwu decoction on tumor growth of H 22 hepatoma mice through PI3K-AKT-mTOR signal pathway [J]. Shi Zhenguo Medicine, 2018 Journal 29 (9): 2060-2065.
- [2] LI Z, LOU Y, TIAN G, et al. Discovering master regulators in hepatocellular carcinoma: one novel MR, SEC14L2 inhibits cancer cells[J]. Aging (Albany NY), 2019,11(24): 12375-12411.
- [3] 韩飞,周孟良.过氧化氢诱导人肝癌细胞产生氧化应激最佳作用浓度的研究[J].粮油食品科技,2011,19(1):62-64.
HAN F, ZHOU M L. Study on the optimal concentration of oxidative stress induced by hydrogen peroxide in human hepatocellular carcinoma cells [J]. Science and Technology of Cereals, Oils and foodstuffs, 2011 Magi 19 (1): 62-64.
- [4] GOMEZ-CADENA A, BARRETO A, FIORETINO S, et al. Immune system activation by natural products and complex fractions: a network pharmacology approach in cancer treatment[J]. Cell Stress, 2020,4(7): 154-166.
- [5] 许洪彬,綦向军,方彩珊,等.基于网络药理学及分子对接探讨穿心莲内酯抗肿瘤机制[J].中国医院药学杂志,2020,40(12):1312-1319.
XU H B, KUI X J, FANG C S, et al. To explore the anti-tumor mechanism of andrographolide based on network pharmacology and molecular docking [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2020 Journal of Pharmacy 40 (12): 1312-1319.
- [6] ZHU N, HOU J, MA G, et al. Network pharmacology identifies the mechanisms of action of shaoyao gancao decoction in the treatment of osteoarthritis[J]. Med Sci Monit, 2019,25: 6051-6073.
- [7] GUO P, CAI C, WU X, et al. An insight into the molecular mechanism of berberine towards multiple cancer types through systems pharmacology[J]. Front Pharmacol, 2019,10: 857.
- [8] 程轩轩,王冬梅,杨得坡.异喹啉类生物碱的生物活性和构效关系研究进展[J].中草药,2006(12):1900-1904.
CHENG X X, WANG D M, YANG D P. Research progress on the biological activity and structure-activity relationship of isoquinoline alkaloids[J]. Chinese Traditional and Herbal Medicine, 2006(12): 1900-1904.
- [9] 曹鹏,张紫薇,李滢,等.异喹啉类生物碱抑菌活性及抗菌机制研究进展[J].中国中药杂志,2016,41(14):2600-2606.
CAO P, ZHANG Z W, LI Y, et al. Research progress in antibacterial activity and antibacterial mechanism of isoquinoline alkaloids[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(14): 2600-2606.
- [10] 赵娜,高峰,刘彬,等.苜蓿四氢异喹啉类生物碱的药理作用及其研究进展[J].药学实践杂志,2015,33(4):313-315.
ZHAO N, GAO F, LIU B, et al. The pharmacological effects and research progress of benzyltetrahydroisoquinoline alkaloids[J]. Journal of Pharmaceutical Practice, 2015,33(4): 313-315.
- [11] LIU C, YANG S, WANG K, et al. Alkaloids from Traditional Chinese Medicine against hepatocellular carcinoma[J]. Biomed Pharmacother, 2019,120: 109543.
- [12] GUO G, ZHOU J, YANG X, et al. Role of MicroRNAs induced by Chinese herbal medicines against hepatocellular carcinoma: a brief review[J]. Integr Cancer Ther, 2018,17(4): 1059-1067.
- [13] QING Z, XU Y, YU L, et al. Investigation of fragmentation behaviours of isoquinoline alkaloids by mass spectrometry combined with computational chemistry[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 733.
- [14] 范慧宁,张靖,朱金水.血根碱抗肿瘤机制的研究进展[J].现代肿瘤医学,2019,27(18):3323-3327.
FAN H N, ZHANG J, ZHU J S. Research progress on anti-tumor mechanism of sanguinarine[J]. Modern Oncology Medicine, 2019, 27(18): 3323-3327.
- [15] YE S, ZHAO X Y, HU X G, et al. TP53 and RET may serve as biomarkers of prognostic evaluation and targeted therapy in hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Rep, 2017, 37(4): 2215-2226.
- [16] BUOLAMWINI J K. Cell cycle molecular targets in novel anticancer drug discovery[J]. Curr Pharm Des, 2000, 6(4): 379-392.
- [17] 范慧宁,张靖,朱金水.血根碱抗肿瘤机制的研究进展[J].现代肿瘤医学,2019,27(18):3323-3327.
FAN H N, ZHANG J, ZHU J S. Research progress on anti-tumor mechanism of sanguinarine[J]. Modern Oncology Medicine, 2019, 27(18): 3323-3327.
- [18] ZHENG K, HE Z, KITAZATO K, et al. Selective autophagy regulates cell cycle in cancer therapy[J]. Theranostics, 2019, 9(1): 104-125.
- [19] LI F, DONG X, LIN P, et al. Regulation of Akt/FoxO3a/Skp2 axis is critically involved in berberine-induced cell cycle arrest in hepatocellular carcinoma cells[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(2): 327.
- [20] 张志敏,秦传蓉,章必成,等.小檗碱对肝癌HepG2细胞增殖和凋亡的调节作用[J].医药导报,2018,37(5):512-518.
ZHANG Z M, QIN C R, ZHANG B C, et al. Regulatory effects of berberine on the proliferation and apoptosis of liver cancer HepG2 cells[J]. Herald of Medicine, 2018, 37(5): 512-518.
- [21] TAN Y L, GOH D, ONG E S. Investigation of differentially expressed proteins due to the inhibitory effects of berberine in human liver cancer cell line HepG2[J]. Mol Biosyst, 2006,2(5): 250-258.
- [22] SU Q, FAN M, WANG J, et al. Sanguinarine inhibits epithelial-mesenchymal transition via targeting HIF-1 α /TGF- β feed-forward loop in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(12): 939.
- [23] PISTRITTO G, TRISCIUOGLIO D, CECI C, et al. Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies[J]. Aging (Albany NY), 2016, 8(4): 603-619.
- [24] WANG N, ZHU M, WANG X, et al. Berberine-induced tumor suppressor p53 up-regulation gets involved in the regulatory network of MIR-23a in hepatocellular carcinoma[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1839(9): 849-857.
- [25] ZHANG P, WANG Q, LIN Z, et al. Berberine inhibits growth of liver cancer cells by suppressing glutamine uptake[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 11751-11763.
- [26] WAN M, ZHANG L, CHEN Y, et al. Synthesis and anticancer activity evaluation of novel phenanthridine derivatives[J]. Front Oncol, 2019, 9: 274.
- [27] LIU W Y, TANG Q, ZHANG Q, et al. Lycorine induces

- mitochondria-dependent apoptosis in hepatoblastoma HepG2 cells through ROCK1 activation[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 651.
- [28] 季宇彬, 辛国松, 魏驰, 等. 石蒜碱诱导人肝癌 HepG₂ 细胞自噬的体外实验研究[J]. *中药材*, 2018, 41(6): 1449-1453.
JI Y B, XIN G S, WEI C, et al. In vitro experimental study of lycorine inducing autophagy in human liver cancer HepG₂ cells[J]. *Chinese Materia Medica*, 2018, 41(6): 1449-1453.
- [29] NG L T, CHIANG L C, LIN Y T, et al. Antiproliferative and apoptotic effects of tetrandrine on different human hepatoma cell lines[J]. *Am J Chin Med*, 2006, 34(1): 125-135.
- [30] ZHANG B, WANG X, DENG J, et al. p53-dependent upregulation of miR-16-2 by sanguinarine induces cell cycle arrest and apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2019, 459: 50-58.
- [31] NAGELKERKE A, SWEEP F C, GEURTS-MOESPOT A, et al. Therapeutic targeting of autophagy in cancer. Part I: molecular pathways controlling autophagy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2015, 31: 89-98.
- [32] LA X, ZHANG L, LI Z, et al. Berberine-induced autophagic cell death by elevating GRP78 levels in cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(13): 20909-20924.
- [33] YU R, ZHANG Z Q, WANG B, et al. Berberine-induced apoptotic and autophagic death of HepG2 cells requires AMPK activation[J]. *Cancer Cell Int*, 2014, 14: 49.
- [34] WANG H, LIU T, LI L, et al. Tetrandrine is a potent cell autophagy agonist via activated intracellular reactive oxygen species[J]. *Cell Biosci*, 2015, 5: 4.
- [35] QUAIL D F, JOYCE J A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1423-1437.
- [36] 陈春苗, 张国哲, 刘平平, 等. 小檗碱通过 TGF- β /Smad 通路抑制 TGF- β 1 诱导的人肝癌 HepG2 细胞上皮间质转化的研究[J]. *中国药理学通报*, 2020(2): 261-267.
CHEN C M, ZHANG G Z, LIU P P, et al. Berberine inhibits the epithelial-mesenchymal transition of human liver cancer HepG2 cells induced by TGF- β 1 through TGF- β /Smad pathway[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2020(2): 261-267.
- [37] KREMER-TAL S, REEVES H L, NARLA G, et al. Frequent inactivation of the tumor suppressor Kruppel-like factor 6 (KLF6) in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2004, 40(5): 1047-1052.
- [38] WANG X, NING W, HONGLIANG L, et al. Up-Regulation of PAI-1 and down-regulation of uPA are involved in suppression of invasiveness and motility of hepatocellular carcinoma cells by a natural compound berberine[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(4): 577.
- [39] TSANG C M, CHEUNG K C, CHEUNG Y C, et al. Berberine suppresses Id-1 expression and inhibits the growth and development of lung metastases in hepatocellular carcinoma[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(3): 541-551.
- [40] ZHANG Z, LIU T, YU M, et al. The plant alkaloid tetrandrine inhibits metastasis via autophagy-dependent Wnt/beta-catenin and metastatic tumor antigen 1 signaling in human liver cancer cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 7.
- [41] LIU W, ZHANG Q, TANG Q, et al. Lycorine inhibits cell proliferation and migration by inhibiting ROCK1/cofilin-induced actin dynamics in HepG2 hepatoblastoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(4): 2298-2306.
- [42] ZHU L, NIU G, FANG X, et al. Preclinical molecular imaging of tumor angiogenesis[J]. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 2010, 54(3): 291-308.
- [43] LUO Y, TIAN G, ZHUANG Z, et al. Berberine prevents non-alcoholic steatohepatitis-derived hepatocellular carcinoma by inhibiting inflammation and angiogenesis in mice[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(5): 2668-2682.
- [44] DESAI S J, PRICKRIL B, RASOOLY A. Mechanisms of phytonutrient modulation of Cyclooxygenase-2 (COX-2) and Inflammation Related to Cancer[J]. *Nutr Cancer*, 2018, 70(3): 350-375.
- [45] LI J, LI O, KAN M, et al. Berberine induces apoptosis by suppressing the arachidonic acid metabolic pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(3): 4572-4577.
- [46] 袁婉雯, 杨玲, 叶名冠, 等. 青藤碱抑制人肝癌细胞 HepG2 作用的研究[J]. *广东药科大学学报*, 2018, 34(5): 604-607.
YUAN W W, YANG L, YE M G, et al. Study on the inhibitory effect of sinomenine on human liver cancer cells HepG2[J]. *Journal of Guangdong Pharmaceutical University*, 2018, 34(5): 604-607.
- [47] GILLES C, MARIE-ODILE F. The many roles of ubiquitin in NF- κ B signaling[J]. *Biomedicines*, 2018, 6(2): 43.
- [48] LI M, ZHANG M, ZHANG Z L, et al. Induction of apoptosis by berberine in hepatocellular carcinoma HepG2 cells via downregulation of NF-kappaB[J]. *Oncol Res*, 2017, 25(2): 233-239.
- [49] GHANDADI M, SAHEBKAR A. Interleukin-6: A critical cytokine in cancer multidrug resistance[J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(5): 518-526.
- [50] HUANG Y, WANG K, GU C, et al. Berberine, a natural plant alkaloid, synergistically sensitizes human liver cancer cells to sorafenib[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(3): 1525-1532.
- [51] DAI B, MA Y, YANG T, et al. Synergistic effect of berberine and HMQ1611 impairs cell proliferation and migration by regulating Wnt signaling pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Phytother Res*, 2019, 33(3): 745-755.
- [52] 刘城, 杨子荣, 于庆功. 青藤碱联合 5-FU 对肝癌细胞 SMMC7721 增殖、凋亡的影响[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(20): 188-190.
LIU C, YANG Z R, YU Q G. Effects of sinomenine combined with 5-FU on the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells SMMC7721[J]. *Digest of World Medical Information*, 2019, 19(20): 188-190.
- [53] 王云, 罗玉梅, 张丽. 青藤碱联合二甲双胍对肝癌 SMMC-7721 细胞系裸鼠模型的促存活、抗凋亡和对 TGF- β /P38/Hsp27 通路的抑制[J]. *医学分子生物学杂志*, 2019, 16(3): 244-250.
WANG Y, LUO Y M, ZHANG L. The pro-survival, anti-apoptosis and inhibition of TGF- β /P38/Hsp27 pathway of sinomenine combined with metformin in nude mouse model of liver cancer SMMC-7721 cell line[J]. *Medical Molecular Biology Magazine*, 2019, 16(3): 244-250.
- [54] YOU X, CAO X, LIN Y. Berberine enhances the radiosensitivity of hepatoma cells by Nrf2 pathway[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2019, 24: 1190-1202.
- [55] HUR J M, HYUN M S, LIM S Y, et al. The combination of berberine and irradiation enhances anti-cancer effects via activation of p38 MAPK pathway and ROS generation in human hepatoma cells[J]. *J Cell Biochem*, 2009, 107(5): 955-964.
- [56] ZHAO X M, HU W X, WU Z F, et al. Tetrandrine enhances radiosensitization in human hepatocellular carcinoma cell lines[J]. *Radiat Res*, 2018, 190(4): 385-395. 

备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lspkj.ijournal.cn/ch/index.aspx>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。