

基于网络药理学探讨山慈菇治疗乳腺癌的分子机制[△]

房立源^{1*}, 冯雪², 李慧杰³, 王志鹏³, 李秀荣^{3#} (1. 山东中医药大学第一临床医学院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学附属医院重症医学科, 山东 济南 250014; 3. 山东中医药大学附属医院肿瘤科, 山东 济南 250014)

中图分类号 R932;R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2021)11-1302-06

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.11.005

摘要 目的:基于网络药理学-分子对接技术,探讨山慈菇治疗乳腺癌的分子作用机制。方法:从中药系统药理学数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP)和UniProt数据库中收集山慈菇的活性成分和其作用靶点,运用GeneCards、人类孟德尔遗传综合数据库(online mendelian inheritance in man,OMIM)和毒性与基因比较数据库(comparative toxicogenomics database,CTD)建立乳腺癌靶点数据库,获取山慈菇作用于乳腺癌的交集靶点。运用Cytoscape Version 3.7.1软件和STRING数据库分别绘制“山慈菇-活性成分-作用靶点”网络图和蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction,PPI)网络图,运用R语言相关程序包进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)通路富集分析和基因本体(gene ontology,GO)功能富集分析,运用分子对接技术验证活性成分与核心靶点的作用强度,最后运用细胞实验证明山慈菇水煎液对乳腺癌细胞增殖的抑制作用。结果:山慈菇共有3个活性成分,涉及70个作用靶点,乳腺癌作用靶点有364个。山慈菇作用靶点和乳腺癌疾病靶点共有14个交集靶点。其中,重要的中药成分有豆甾醇和 β -谷甾醇;关键作用靶点为PTGS2、JUN、ESR1和NOS3。GO功能富集分析和KEGG通路富集分析结果显示,共筛选出475条GO信号通路和23条KEGG信号通路,主要涉及癌症的途径和雌激素信号通路等。分子对接结果显示,化合物与靶点之间具有较好的结合能。细胞实验结果证实,山慈菇对乳腺癌具有较好的抑瘤作用。结论:山慈菇治疗乳腺癌具有多成分、多靶点和多通路的特点,可为临床应用提供更多参考。

关键词 山慈菇;乳腺癌;网络药理学;机制预测;分子对接

Molecular Mechanism of Iphigenia Indica in the Treatment of Breast Cancer Based on Network Pharmacology[△]

FANG Liyuan¹, FENG Xue², LI Huijie³, WANG Zhipeng³, LI Xiurong³ (1. First College of Clinical Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong Jinan 250014, China; 2. Dept. of Intensive Care Unit, the Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong Jinan 250014, China; 3. Dept. of Oncology, the Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong Jinan 250014, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To explore the molecular mechanism of iphigenia indica in the treatment of breast cancer based on network pharmacology molecular docking. **METHODS:** The active components and their targets of iphigenia indica were collected from traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP). The database of breast cancer target was established by GeneCards, online mendelian inheritance in man (OMIM) and comparative toxicogenomics database (CTD), and the intersection target of iphigenia indica in the treatment of breast cancer was obtained. Cytoscape Version 3.7.1 software and STRING database were used to draw the network diagram of “iphigenia indica-active ingredients-targets” and protein-protein interaction (PPI). Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis and gene ontology (GO) functional enrichment analysis were performed by using R language package. Molecular docking was used to explore the interaction between active ingredients and core targets. Cell experiments were carried out to prove the inhibitory effect of the decoction on the proliferation of breast cancer cells. **RESULTS:** There were 3 active ingredients and 70 targets in iphigenia indica, including 364 targets in breast cancer. There were 14 targets in the intersection of iphigenia indica

△ 基金项目:山东省重点研发计划项目(No.2017G006020)

* 硕士研究生。研究方向:中西医结合防治肿瘤。E-mail:1837595980@qq.com

通信作者:主任医师,博士,教授,博士生导师。研究方向:中西医结合防治肿瘤。E-mail:lixr2000@126.com

and breast cancer targets. Stigmasterol and beta-sitosterol were the most important ingredients of traditional Chinese medicine. The key targets were PTGS2, JUN, ESR1 and NOS3. GO analysis and KEGG enrichment analysis showed that 475 GO pathways and 23 KEGG pathways were screened out, mainly related to cancer pathway and estrogen signaling pathway. The results of molecular docking indicated that there was good binding energy between the compound and the target. Cell experiments confirmed that *Iphigenia indica* has significant anti-tumor effect on breast cancer. CONCLUSIONS: *Iphigenia indica* has the characteristics of multi-component, multi-target and multi-channel in the treatment of breast cancer, which can provide more references for clinical application.

KEYWORDS *Iphigenia indica*; Breast cancer; Network pharmacology; Mechanism prediction; Molecular docking

全球恶性肿瘤统计数据显示,2018年乳腺癌在全球的发病率为11.6%,其发病率、死亡率在女性肿瘤中居首位,分别为24.2%、15.0%,严重威胁女性的身心健康^[1]。国家癌症中心发布的统计数据表明,2015年我国乳腺癌发病率为17.10%,居女性肿瘤发病率之首,发病患者数约为30.4万例^[2]。近年来,乳腺癌的发病率呈现出逐年升高和年轻化的趋势^[3-4]。乳腺癌早期的临床症状多表现为乳房肿块,质硬,与周围组织有粘连;中晚期多表现为乳头内陷,乳房皮肤呈现“橘皮样”外观,并伴有内脏转移和骨转移。目前,乳腺癌的治疗方式主要有外科手术、放疗、化疗、分子靶向、内分泌、免疫及中医药等综合治疗模式。近年来,中医药成为乳腺癌治疗中的重要组成部分并涵盖其各治疗阶段。中医药治疗乳腺癌的疗效可靠,尤其是在减毒增效、预防复发转移^[5-6]、防治肿瘤及治疗相关并发症^[7-8]和提高患者生活质量^[9-10]等方面得到了越来越多的认可和支持。山慈菇味甘、微辛,性凉,归肝、脾经,具有清热解毒、软坚散结的功效,主要用于痈肿疔毒等^[11]。目前,山慈菇在临床上被广泛应用于肿瘤的治疗,涉及乳腺癌、肝癌和肺癌等^[12-15]。随着科学技术的发展,网络药理学-分子对接技术逐渐成为新型的疾病-药物预测模型。本研究运用网络药理学方法收集山慈菇的活性成分和靶点,分析预测其作用于乳腺癌的潜在机制,验证活性成分和核心靶点的结合强度,以期如山慈菇在临床上的广泛使用提供更多有价值的参考。

1 资料与方法

1.1 网络药理学

1.1.1 山慈菇成分收集和筛选:在中药系统药理学数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMS)和 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/uniprot/>)中获取山慈菇的活性成分和相关作用靶点。筛选条件为口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$,类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 。

1.1.2 山慈菇和乳腺癌作用靶点的获取:以“Breast Cancer”为关键词,通过 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、人类孟德尔遗传综合数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)(<https://www.omim.org/>)和毒性与基因比较数据库(comparative toxicogenomics database, CTD)(<https://ctdbase.org/>)数据库,检索并筛选乳腺癌相关的作用基因。利用 Venny 2.1 在线工具进行山慈菇作用靶点和乳腺癌靶点的映射并

绘制韦恩图,交集基因作为山慈菇治疗乳腺癌的重要靶点。

1.1.3 山慈菇活性成分与作用靶点网络构建:将山慈菇的活性成分和作用靶点导入 Cytoscape Version 3.7.1 软件,构建“山慈菇-活性成分-作用靶点”网络。其网络的节点表示靶点或活性成分,边表示两者之间具有相互作用。

1.1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein Interaction, PPI)网络构建:将山慈菇作用靶点和乳腺癌疾病靶点交集部分输入至 STRING 数据库(<https://string-db.org/>),选择物种为“Homo sapiens”进行下一步操作,设定相互作用阈值为“medium confidence=0.4”,获取 PPI 网络图。

1.1.5 关键靶点筛选:运用 Cytoscape Version 3.7.1 软件对“1.1.4”项下获得的网络图进行拓扑属性分析,计算网络图整体的中介中心性(betweenness centrality, BC)、接近中心性(closeness centrality, CC)和点度中心性(degree centrality, DC),以 BC、CC 和 DC 的平均数为“阈值”,选取 BC、CC 和 DC 同时在阈值之上的靶点作为关键靶点。

1.1.6 基因本体(gene ontology, GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析:通过 R 语言把山慈菇-乳腺癌的共有靶点转化成 entrez ID,加载“Bioconductor”“clusterProfiler”等程序包,运行 R 语言获得 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集的气泡图。最后运用 Perl 语言把 entrez ID 转换为基因靶点信息。根据生物过程分析和通路富集结果,对山慈菇治疗乳腺癌的物质基础和分子机制进行分析预测。

1.1.7 中药活性成分与关键靶点的分子对接:选取山慈菇的主要活性成分与核心靶蛋白进行活性成分与核心靶蛋白的分子对接。从 PDB 数据库中下载靶蛋白的 3D 结构,从 TCMS 数据库中下载化合物的结构,并保存为 mol2 格式。利用 PYMOL 软件对靶蛋白进行除水除配体,利用 AutoDock 1.5.6 软件将活性成分及靶蛋白格式转换为 pdbqt 格式,最后运行 Auto Dock vina 进行对接,再使用 PyMOL 对结果进行可视化^[16]。相关文献报道,化合物和靶标之间结合能 < -20.93 kJ/mol 被认为具有较好作用^[17]。

1.2 细胞实验

1.2.1 细胞:人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞,购自上海泽叶生物科技有限公司。

1.2.2 仪器:CO₂ 细胞培养箱(美国 Thermo Scientific 公司);DMI1 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司);FD-1 A-50 型真空

冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司)。

1.2.3 药品与试剂:山慈菇(购于山东中医药大学附属医院),制备成3 g/ml的山慈菇水煎液。DMEM培养液(德国Lonza公司);胎牛血清、青霉素和链霉素(美国Gibco公司);噻唑蓝(MTT)(北京兰博利德生物技术有限公司)。

1.2.4 MTT法检测人乳腺癌MDA-MB-231细胞生长增殖情况:将人乳腺癌MDA-MB-231细胞接种于6孔板中,每孔100 μl,置入37℃、5% CO₂培养箱中培养24 h,吸除原培养液,实验组分别加入90、180、360和720 mg/ml山慈菇水煎剂,对照组加入等量细胞培养液,空白组不接种细胞。全部置于培养箱中48 h,用4℃的0.9%氯化钠溶液洗2次,加入0.5 mg/ml的MTT溶液100 μl,避光,孵育4 h,加入二甲基亚砜150 μl,继续避光,振摇15 min后上机检测,于490 nm处检测吸光度(A),重复3次,计算细胞存活率,细胞存活率=(A_{实验组}-A_{空白组})/(A_{对照组}-A_{空白组})×100%。

1.2.5 统计学方法:采用SPSS 21.0软件分析,计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两个独立样本组间均数比较用t检验,P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 山慈菇有效成分的筛选

将山慈菇输入到TCMSP和UniProt数据库,共检索到山慈菇的3个活性成分,70个作用靶点,见表1。

表1 山慈菇活性成分

序号	化合物成分	OB/%	DL
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
MOL007991	2-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-4,5-diol	44.97	0.18

2.2 乳腺癌作用靶点的获取

以“Breast Cancer”为关键词在Gene Cards、OMIM和CTD数据库进行检索,并合并3个数据库检索内容,利用Excel软件对数据进行去重,最终找到乳腺癌相关靶点基因364个。

2.3 药物-作用靶点网络图构建

运用Cytoscape Version 3.7.1软件构建“山慈菇-活性成分-作用靶点”网络,该网络中共有74个节点,423条相互作用的边,见图1。

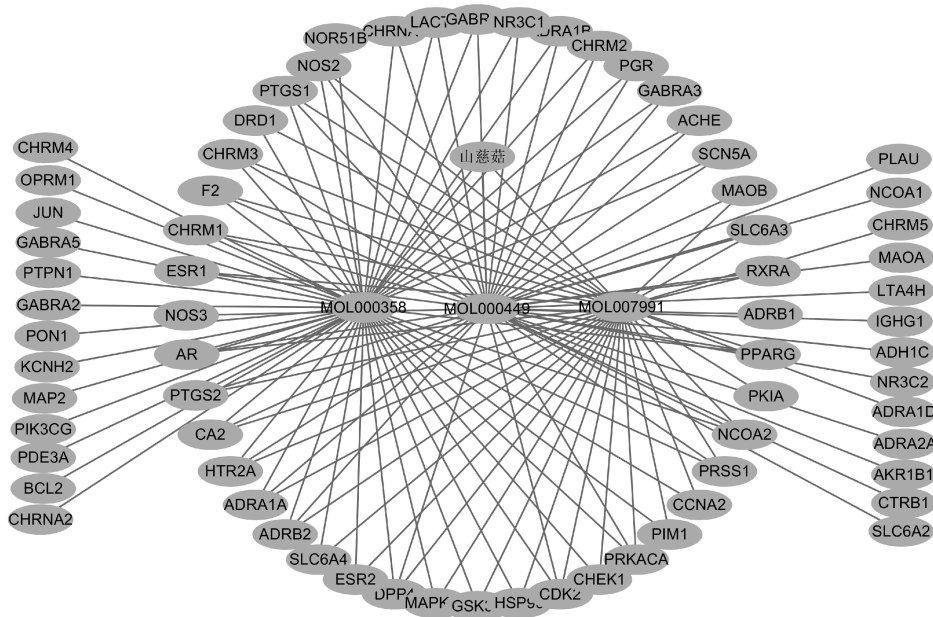


图1 “山慈菇-活性成分-作用靶点”网络图

Fig 1 Network diagram of “Iphigenia indica-active ingredients-targets”

2.4 PPI网络的构建

将山慈菇相关靶点网络映射到乳腺癌靶点网络中,2个网络中交集基因共有14个,即认为这是山慈菇治疗乳腺癌的可能作用靶点。结果显示,14个靶蛋白发生较强的相互作用,共产生32条蛋白质相互作用的边,见图2—3。

2.5 关键靶点网络图

通过Cytoscape Version 3.7.1计算得到,PPI网络中BC平均数为2,CC平均数为0,DC平均数为0.482,将节点的BC、CC和DC均大于其平均数的节点基因作为核心靶基因,共筛选出核心靶点基因7个,其中比较重要的为PTGS2、JUN、

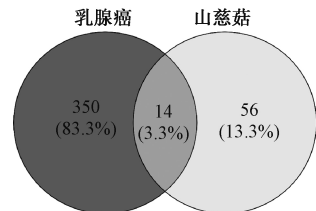


图2 韦恩图

Fig 2 Venny diagram

ESR1和NOS3。关键靶点网络图见图4,图中节点大小表示度值的大小,节点越大对应的度值越大,边的粗细表示合并分数,

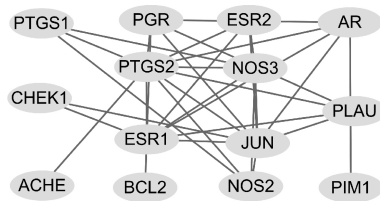


图3 PPI网络图
Fig 3 PPI network

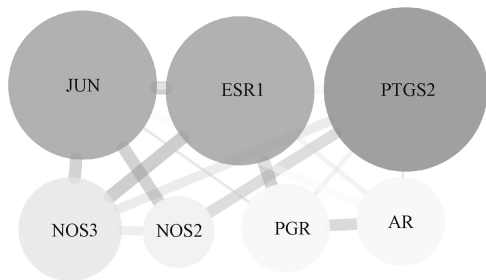


图4 关键靶点网络图
Fig 4 Network diagram of core target

边越粗提示合并分数越大,表示该节点蛋白与其他节点作用网络越广泛。

2.6 生物通路及富集分析

2.6.1 GO功能富集分析:运用R语言对14个潜在作用靶点进行生物功能富集分析,共有475条GO数据($P < 0.05$)。其中生物学过程条目最多,共有420个,主要集中在对类固醇激素的反应(response to steroid hormone)、生殖结构发展(reproductive structure development)和生殖系统发育(reproductive system development);分子功能相关条目有51个,主要涉及核受体活性(nuclear receptor activity)、配体激活转录因子活性(ligand-activated transcription factor activity)和类固醇

结合(steroid binding);细胞组成相关条目有4个,主要涉及细胞器外膜(organelle outer membrane)和外膜支架(outer membrane)等,见图5—7。

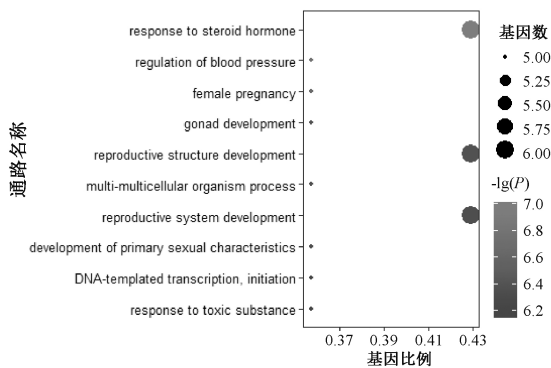


图5 生物学过程GO功能富集分析
Fig 5 GO function enrichment analysis of biological process

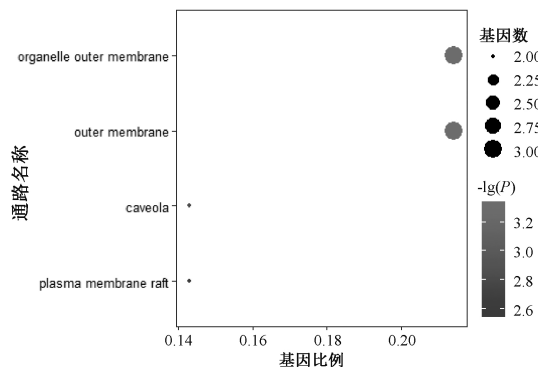


图6 细胞组成GO功能富集分析
Fig 6 GO function enrichment analysis of cell component

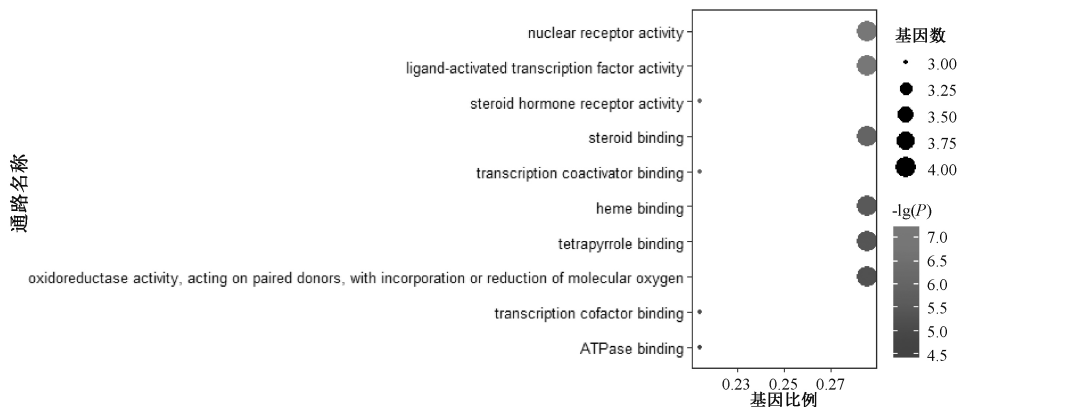


图7 分子功能GO功能富集分析
Fig 7 GO function enrichment analysis of molecular function

2.6.2 KEGG通路富集分析:运用R语言对14个潜在作用靶点进行代谢通路富集分析,共获得23条通路($P < 0.05$)。山慈菇治疗乳腺癌主要涉及雌激素信号通路(estrogen signaling pathway)、内分泌抵抗(endocrine resistance)、糖尿病并发症中的AGE-RAGE信号通路(AGE-RAGE signaling pathway in

diabetic complications)和乳腺癌(breast cancer)等通路,见图8。

2.7 分子对接结果

山慈菇中活性成分与靶标的结合能信息见表2,具体对接过程见图9—10。分子对接过程充分说明,山慈菇中活性成分与乳腺癌的核心基因靶点具有较好的结合能力。

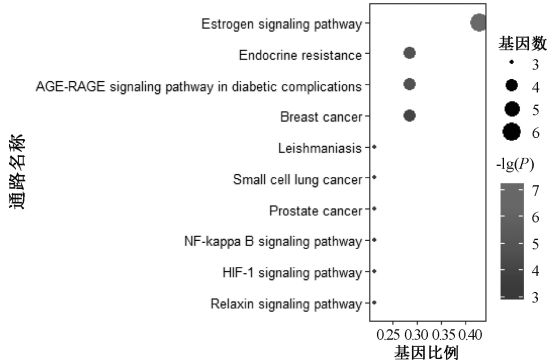


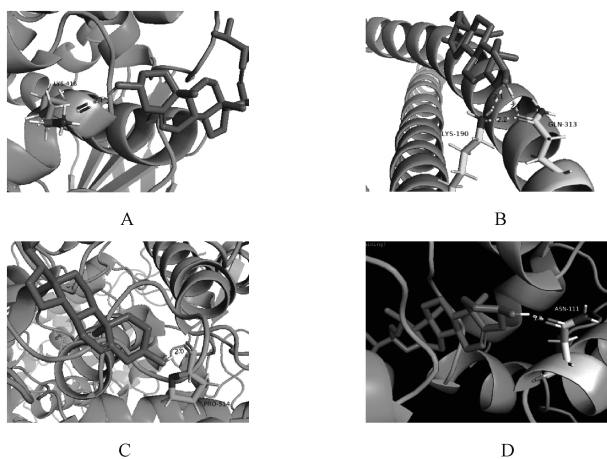
图 8 KEGG 通路富集分析

Fig 8 KEGG pathway enrichment analysis

表 2 分子对接结果

Tab 2 Result of molecular docking

化合物	结合能/(kJ/mol)			
	PTGS2	JUN	ESR1	NOS3
beta-sitosterol	-29.30	-25.95	-30.14	-25.12
stigmasterol	-33.49	-29.30	-29.72	-34.32



A. PTGS2; B. JUN; C. ESR1; D. NOS3

A. PTGS2; B. JUN; C. ESR1; D. NOS3

图 9 β -谷甾醇与靶点的分子对接

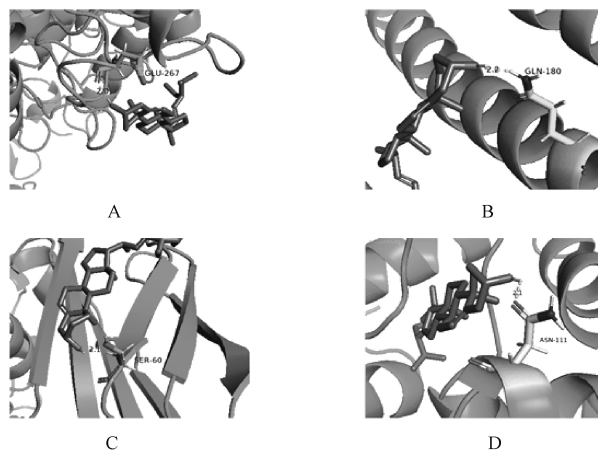
Fig 9 Molecular docking of beta-sitosterol with targets

2.8 山慈菇对乳腺癌细胞增殖的影响

实验结果显示,90 mg/ml 的山慈菇水煎液 A 组细胞存活率为 92.25%,与对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。其他质量浓度的山慈菇水煎液对乳腺癌细胞具有不同程度的抑制作用,且表现出细胞存活率与质量浓度呈负相关性的趋势。

3 讨论

本研究运用网络药理学方法预测山慈菇对乳腺癌的可能作用机制,发现山慈菇共有 3 个活性成分,作用于 70 个药物靶点。其中豆甾醇和 β -谷甾醇是山慈菇治疗乳腺癌的主要化合物。现代研究表明,山慈菇发挥抑制肿瘤增殖的作用与干预 IL-6 等炎症因子释放、改善肿瘤微环境有关^[18]。山慈菇中的豆甾醇可通过调控凋亡基因表达,阻断恶性肿瘤细胞



A. PTGS2; B. JUN; C. ESR1; D. NOS3

A. PTGS2; B. JUN; C. ESR1; D. NOS3

图 10 豆甾醇与靶点的分子对接

Fig 10 Molecular docking of stigmasterol with targets

表 3 山慈菇水煎液对乳腺癌细胞增殖的影响 ($\bar{x}\pm s, n=96$)

Tab 3 Effects of water extract of iphigenia indica on proliferation of breast cancer cells ($\bar{x}\pm s, n=96$)

组别	质量浓度/(mg/ml)	MTT 值	细胞存活率/%
对照组	—	0.421 5 \pm 0.048 9	100.00
山慈菇水煎液 A 组	90	0.367 8 \pm 0.043 5	92.25
山慈菇水煎液 B 组	180	0.332 6 \pm 0.061 8**	80.16
山慈菇水煎液 C 组	360	0.274 6 \pm 0.035 7**	65.58
山慈菇水煎液 D 组	720	0.102 3 \pm 0.001 5**	30.15

注:与对照组相比,** $P<0.05$

Note: vs. the control group, ** $P<0.05$

转移^[19-20]; β -谷甾醇可阻滞恶性肿瘤细胞的细胞周期,并触发凋亡性死亡^[21]。

对山慈菇与乳腺癌的共同靶点进行 PPI 映射,并构建核心靶点网络图,出现频次较高的关键靶点有 4 个,分别为 PTGS2、JUN、ESR1 和 NOS3,可作为潜在治疗靶点。前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2/COX-2) 在肿瘤细胞增殖和转移中具有重要作用。研究表明,COX-2 在伴有淋巴结转移的乳腺癌中处于活跃状态,且高表达的 COX-2 常提示患者不良预后^[22-23]。化合物豆甾醇和 β -谷甾醇能够抑制 COX-2 的表达,进而在乳腺癌的治疗中发挥效能^[24]。ER 是乳腺癌内分泌治疗的重要靶点之一,其中 ER α 蛋白由 ESR1 基因编码,与乳腺癌关系最为密切^[25-26]。基础研究结果发现,晚期乳腺癌患者中 ESR1 突变率高,对内分泌治疗效果较差,常联合中医药辅助治疗,效果显著^[27-28]。郭淳等^[29]通过实验发现,山慈菇水煎剂对 ER 阳性的 Luminal 型乳腺癌细胞的增殖具有一定的抑制作用。一氧化氮合酶 (NOS) 能够催化产生一种重要的信号调节因子(一氧化氮)。NOS 在乳腺癌中表达增多,推动了肿瘤血管生成、肿瘤进展和转移^[30]。Pandith 等^[31]的研究结果发现,豆甾醇能明显减少 COX-2 和 NOS mRNA 的表达。

进一步分析发现,山慈菇治疗乳腺癌涉及多个生物学过

程,主要集中在对类固醇激素的结合和反应;代谢通路富集分析表明,关键靶点富集在雌激素信号通路、内分泌抵抗、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路和乳腺癌等通路。从分子对接结果可知,豆甾醇和 β -谷甾醇与 PTGS2、JUN、ESR1 和 NOS3 的结合能均 <-20.93 kJ/mol,说明山慈菇与靶点具有较好的结合活性。最后通过细胞实验证实,山慈菇水煎液对乳腺癌细胞具有较强的抑制作用,且随着浓度的提升,对乳腺癌细胞的杀伤作用逐渐增强。

综上所述,本研究运用网络药理学方法、分子对接技术和细胞实验,对山慈菇抗乳腺癌的作用机制和物质基础进行了初步探索。山慈菇中的主要化合物豆甾醇和 β -谷甾醇,可能以 PTGS2、JUN、ESR1 和 NOS3 为主要结合靶点,通过癌症途径、雌激素信号通路等发挥抗肿瘤作用,并通过实验证实山慈菇对乳腺癌细胞的杀伤作用,充分体现了中药抗肿瘤具有多成分、多靶点和多层次的特点。但本研究仍存在一些不足之处,数据库不能完全包括药物所有的化学成分及其相应的靶点,且化学生物学方法本身也具有一定的局限性。

参考文献

[1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.

[2] 郑荣寿,孙可欣,张思维,等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2019, 41(1):19-28.

[3] 邹小农,赵平. 中国癌症态势七十年分析[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2019, 26(10):1153-1161.

[4] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2019 年版) [J]. *中国癌症杂志*, 2019, 29(8):609-679.

[5] 罗楚凡,刘宁远,张静,等. 萎慈散结方防治三阴性乳腺癌复发转移的临床观察[J]. *北京中医药*, 2020, 39(10):1022-1027.

[6] 杨丽娜,李天昊,杨振江,等. 中药内服预防三阴性乳腺癌术后复发转移临床及实验研究进展[J]. *新中医*, 2020, 52(17):17-21.

[7] Park B, Noh H, Choi DJ. Herbal medicine for xerostomia in cancer patients: A systematic review of randomized controlled trials [J]. *Integr Cancer Ther*, 2018, 17(2):179-191.

[8] Kim W, Lee WB, Lee JW, et al. Traditional herbal medicine as adjunctive therapy for breast cancer: A systematic review [J]. *Complement Ther Med*, 2015, 23(4):626-632.

[9] 刘晓芳,张鑫,孔晶. 温针灸对乳腺癌患者术后上肢水肿的疗效及焦虑抑郁的观察研究[J]. *世界中医药*, 2019, 14(7):1856-1860.

[10] 胡辉,吴芳,朱建华. 磁珠耳穴疗法合中医情志护理对乳腺癌患者化疗后睡眠及生活质量的影响[J]. *湖南中医杂志*, 2020, 36(11):114-115, 149.

[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2020 年版. 北京:中国医药科技出版社, 2020:23.

[12] 司函瑞,司雨,焦玉凤,等. 山慈菇化学成分及其药理作用研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2020, 22(5):151-155.

[13] 刘颖,张子英,马丽杰. 山慈菇抗乳腺癌的作用机制研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(3):863-866.

[14] 方健,王辰男,孟庆刚. 山慈菇提取物对肝癌细胞 Huh7 增殖、凋亡的影响及其机制[J]. *山东医药*, 2020, 60(11):11-15.

[15] 肖开. 中药山慈菇辅助治疗晚期非小细胞肺癌的临床效果[J]. *慢性病学杂志*, 2021, 22(1):142-143, 146.

[16] Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2):455-461.

[17] Li B, Rui J, Ding X, et al. Exploring the multicomponent synergy mechanism of Banxia Xiexin Decoction on irritable bowel syndrome by a systems pharmacology strategy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 233:158-168.

[18] 唐纯明,何自力,李军. 山慈菇提取物对肝癌细胞增殖及 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达的影响[J]. *山东医药*, 2020, 60(8):11-14.

[19] Li K, Yuan D, Yan R, et al. Stigmasterol exhibits potent antitumor effects in human gastric cancer cells mediated via inhibition of cell migration, cell cycle arrest, mitochondrial mediated apoptosis and inhibition of JAK/STAT signalling pathway [J]. *J BUON*, 2018, 23(5):1420-1425.

[20] 于林楠,翟宏颖. 山慈菇提取物对结肠癌 HT29 细胞凋亡的影响[J]. *中国民族民间医药*, 2016, 25(16):17-19.

[21] 周玲玉,徐彩,王乐琴,等. β -谷甾醇对人肺癌 A549 细胞增殖及凋亡的影响[J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(7):865-867.

[22] 陈怡萌,蒋安,郭卉,等. 三阴性乳腺癌中 COX-2 表达及其与临床病理特征关系的 Meta 分析[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(10):1731-1736.

[23] 谭林彦,刘敏,葛菲,等. 环加氧酶-2 通过调控 EMT 促进乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(5):557-562.

[24] 冯思敏,宁可,邵平,等. β -谷甾醇和豆甾醇对小鼠急性结肠炎的治疗作用研究[J]. *中国粮油学报*, 2018, 33(12):80-86, 94.

[25] Farzaneh S, Zarghi A. Estrogen receptor ligands: A review (2013-2015) [J]. *Sci Pharm*, 2016, 84(3):409-427.

[26] Toy W, Weir H, Razavi P, et al. Activating ESR1 mutations differentially affect the efficacy of ER antagonists [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(3):277-287.

[27] 张秀丽,马文心,卢雯平. 基于循环肿瘤 DNA 观察疏肝益肾方治疗内分泌耐药晚期乳腺癌的临床效果[J]. *中国医药*, 2020, 15(3):406-409.

[28] 王欣. ESR1 基因突变与雌激素受体阳性晚期乳腺癌内分泌治疗耐药的相关性[D]. 北京:北京协和医学院, 2019.

[29] 郭淳,龚永杰,孙放,等. 山慈菇水煎剂对人乳腺癌 T-47D 细胞增殖和迁移的影响[J]. *中医学报*, 2017, 32(10):1832-1835.

[30] 赵翠翠,陈靖,刘妍,等. 一氧化氮与乳腺癌相关的细胞信号转导研究进展[J]. *国际生物医学工程杂志*, 2019, 42(3):263-267.

[31] Pandith H, Zhang X, Thongpraditchote S, et al. Effect of Siam weed extract and its bioactive component scutellarein tetramethyl ether on anti-inflammatory activity through NF- κ B pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 147(2):434-441.

(收稿日期:2021-04-04)