

基于网络药理学和分子对接研究三叶青降低慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的作用机制

张 雪, 岑宛蔓, 林诗媛, 徐发莹*

杭州医学院临床医学院, 浙江 杭州

收稿日期: 2025年12月12日; 录用日期: 2026年1月9日; 发布日期: 2026年1月22日

摘 要

目的: 运用网络药理学探究三叶青对降低慢性应激所致肿瘤标志物水平升高的作用机制。方法: 通过文献、TCMSP平台筛选三叶青主要成分, Swiss Target Prediction数据库预测作用靶点; 从Genecards数据库中获取慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的靶点; 取交集后利用STRING数据库及Cytoscape软件构建PPI网络来判定核心靶点基因; 运用David数据库进行GO功能富集分析和KEGG信号通路富集分析, 最后利用PubChem数据库、AutoDock Tools 1.5.7软件、PyMOL 3.1.6.1软件将活性成分和关键靶点进行分子对接。结果: 经文献和数据库分析共得到三叶青活性化学成分作用靶点735个、疾病相关基因1527个、交集靶点235个, 筛选出前10位潜在靶点, 分别为: GAPDH、AKT1、TNF、IL6、ALB、CASP3、BCL2、EGFR、STAT3、JUN; 筛选出排名前5位的关键活性成分, 分别为: 异鼠李素、芹菜素、木犀草素、槲皮素、山柰酚。基于DAVID数据库、GO富集功能分析和KEGG通路富集分析, 结果表明三叶青主要通过影响信号通路、改变细胞组分、影响激酶活性, 调控PI3K-Akt、HIF-1、AGE-RAGE、MAPK等信号通路发挥降低慢性应激所致肿瘤标志物水平升高的作用。分子对接结果显示甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、肿瘤坏死因子(TNF)成分与槲皮素(SYQ115)靶点结合亲和力最高。结论: 三叶青降低慢性应激所致肿瘤标志物水平升高具有多成分、多靶点与多途径的协调作用, 为后续中医药治疗慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高提供研究依据。

关键词

三叶青, 网络药理学, 慢性应激, 肿瘤标志物, 作用机制

*通讯作者。

Elucidating the Mechanism of *Tetrastigma hemsleyanum* in Attenuating Chronic Stress-Induced Elevation of Serum Tumor Markers Levels via Network Pharmacology and Molecular Docking

Xue Zhang, Wanman Ceng, Shiyuan Lin, Faying Xu*

School of Clinical Medicine, Hangzhou Medical College, Hangzhou Zhejiang

Received: December 12, 2025; accepted: January 9, 2026; published: January 22, 2026

Abstract

Objective: To explore the mechanism of *Tetrastigma hemsleyanum* in reducing the elevated level of tumor markers caused by chronic stress using network pharmacology. **Methods:** Screen the main components of *Tetrastigma hemsleyanum* through literature and TCMSP platform, and predict target sites through Swiss Target Prediction database; obtain the targets of elevated serum tumor markers levels caused by chronic stress from the GeneCards database; after taking the intersection, use the STRING database and Cytoscape software to construct a PPI network to determine core target genes; use the DAVID database for GO function enrichment analysis and KEGG signaling pathway enrichment analysis, and finally use the PubChem database, AutoDock Tools 1.5.7 software, and PyMOL 3.1.6.1 software to perform molecular docking on active components and key targets. **Results:** A total of 735 target sites of active chemical components of *Tetrastigma hemsleyanum*, 1527 disease-related genes, and 235 intersection targets were obtained through literature and database analysis. The top ten potential targets were screened out, which were: GAPDH, AKT1, TNF, IL6, ALB, CASP3, BCL2, EGFR, STAT3, JUN; the top five key active components were screened out, which were: isorhamnetin, apigenin, luteolin, quercetin, kaempferol. Based on the DAVID database, GO enrichment functional analysis, and KEGG pathway enrichment analysis, the results indicated that *Tetrastigma hemsleyanum* mainly exerts its effect of reducing the elevated levels of tumor markers caused by chronic stress by influencing signaling pathways, altering cellular component, affecting kinase activity, and regulating signaling pathways such as PI3K-Akt, HIF-1, AGE-Rage, and MAPK. The molecular docking results showed that glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and tumor necrosis factor (TNF) components had the highest binding affinity with the quercetin (SYQ115) target. **Conclusion:** *Tetrastigma hemsleyanum* has a harmonization effect with multiple components, multiple targets, and multiple pathways in reducing the elevated levels of tumor markers caused by chronic stress, providing a research basis for subsequent traditional Chinese medicine treatment of elevated serum tumor markers levels caused by chronic stress.

Keywords

Tetrastigma hemsleyanum, Network Pharmacology, Chronic Stress, Tumor Markers, Mechanism of Action



1. 前言

在当今医学领域,肿瘤标志物检测凭借其便捷性与敏感性,已深度融入临床疾病诊断、疗效监测及大规模健康体检流程之中。其广泛应用极大地提升了肿瘤早期筛查的效率,为患者的及时干预与管理争取了宝贵时机[1]。然而,临床实践中,非肿瘤因素导致的肿瘤标志物升高现象屡见不鲜,据相关研究统计,此类假阳性情况在肿瘤标志物异常结果中占比可达 30% [2],其中慢性应激引发的肿瘤指标异常已逐渐显露临床影响。慢性应激状态下,机体下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA 轴)持续激活,皮质醇等应激激素过量分泌,可通过调控炎症因子(如 IL-6、TNF- α)表达、抑制免疫监视功能等途径,直接或间接导致癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 125 (CA125)、糖类抗原 19-9 (CA19-9)等常见肿瘤标志物的异常升高[3]。肝炎、肝硬化、肺炎、盆腔炎等良性疾病,以及吸烟、妊娠、标本溶血等生理或技术因素,均可引发肿瘤标志物水平的波动[4]。这种由慢性应激介导的肿瘤指标波动,不仅导致受检者承受不必要的心理负担,催生严重的健康焦虑,还在一定程度上干扰了临床医生的诊断决策,增加了误诊、漏诊及过度医疗的风险,成为亟待解决的临床难题[5]。

传统中药以其多靶点、整体调节的独特优势,在应对复杂疾病状态方面展现出巨大潜力[6]。三叶青,作为一味在民间应用历史悠久的中药材,具有清热解毒、消肿散结等功效[7]。现代临床观察发现,三叶青在调节机体免疫、减轻炎症反应等方面作用显著,尤其在改善非肿瘤因素所致肿瘤标志物升高方面取得了确切疗效[8]。其丰富的活性成分可能通过多途径协同作用,对机体的异常生理状态发挥调节功能,为解决上述临床问题提供了新的可能方向[9]。

网络药理学作为新兴的药物研究方法,能够基于系统生物学理论,整合药物成分、作用靶点及疾病相关信息,构建复杂的药物-靶点-疾病网络,从而全面、系统地解析药物的作用机制[10]。在中药研究中,该方法可有效弥补传统研究手段对多成分、多靶点复杂体系解析不足的缺陷,清晰阐释中药复方或单味药的物质基础与作用机制[11]。鉴于三叶青成分复杂、作用机制不明的现状,运用网络药理学技术,有助于从整体层面揭示三叶青调节肿瘤标志物水平的潜在靶点与信号通路,明确其作用的物质基础与内在规律[12]。

本研究以此为契机,运用网络药理学技术构建“成分-靶点-通路”调控网络,深入挖掘三叶青干预非肿瘤因素所致肿瘤标志物升高的潜在分子机制。本研究的开展,不仅为三叶青有效活性组分的后续开发提供坚实的依据,更为临床解决这一棘手健康问题开拓全新的研究思路。

2. 资料与方法

2.1. 三叶青化学成分检索和筛选

根据查阅文献报道对三叶青的化学成分进行搜集。基于 TCMSP (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)数据库,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug-like, DL) ≥ 0.18 为限定条件对所收集到的化学成分进行筛选,使用 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库收集 TCMSP 中未包含或相关参数不完全的成分。将上述成分的对 SMILES 导入 Swiss AMDE 平台,用于化合物的 ADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>)参数、药代动力学性质、类药性检索。以胃肠道吸收效率(GI absorption 为 high)和类药性(Druglikeness 参数至少有 2 个 YES)为标准进行筛选。

2.2. 三叶青活性成分作用靶点的获取

综合 TCMSP、SwissAMDE 数据库筛选出的活性成分, 导入成分的 SMILES 于 SwissTarget Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 平台进行预测, 收集成分靶点, 选择 Probability > 0 的靶点, 去除重复项, 作为三叶青的有效成分靶点。

2.3. 慢性应激因素所致血清肿瘤标志物水平升高的作用靶点获取

以 “Abnormal tumor indicators associated with chronic stress” 为检索词搜索, 通过 GeneCards (<https://www.genecards.org>) 数据库获取慢性应激相关的异常肿瘤指标的作用靶点, 依据 “Relevance score” 进行多次中位数筛选, 取第 3 次中位数筛选结果。

2.4. “三叶青 - 活性成分 - 靶点” 网络构建

使用 Venny 2.1 (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools.html>) 在线工具对三叶青有效成分靶点和慢性应激相关的异常肿瘤指标作用靶点取交集, 作为三叶青降低慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的交集靶点。

利用 Cytoscape 3.10.3 (<http://www.cytoscape.org>) 软件, 构建 “三叶青 - 活性成分 - 靶点” 相互作用网络, 经 “network analyzer” 功能分析网络各节点的 degree 值, 筛选出关键活性成分。

2.5. 蛋白相互作用(Protein-Protein Interaction, PPI)网络的构建

将三叶青降低慢性应激相关的异常肿瘤指标的交集靶点导入 STRING (<https://cn.string-db.org/>) 数据库, 选择 multiple proteins, 限定物种为 homo sapiens, 构建蛋白相互作用关系图, 再将其导入 Cytoscape 3.10.3 软件, 根据 Cytoscape 2.2 插件中的 Closeness、Betweenness、Degree 算法, 综合筛选出核心靶点, 绘制 PPI 网络。

2.6. GO 和 KEGG 富集分析

为了进一步探索三叶青治疗慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的作用机制, 将三叶青药物主要成分基因与慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的疾病基因的交集基因导入至 David 数据库, 在 David (<https://davidbioinformatics.nih.gov/>) 数据库中进行基因本体(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)信号通路富集分析, 其中基因标识符选择 OFFICIAL_GENE_SYMBOL 以将所选取的靶基因名称校正为其官方名称, 将物种设置为 Homo sapiens。通过 David 数据库进行 GO 富集分析, 分别运用 GO 分析中的 GOTERM_BP_DIRECT、GOTERM_CC_DIRECT、GOTERM_MF_DIRECT 从生物过程(BP)、细胞组成(CC)、分子功能(MF)三个方面说明三叶青治疗慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的功能; 同时运用 KEGG_PATHWAY 富集分析其参与的相关信号通路。选取前 20 条生物过程(BP)、细胞组成(CC)、分子功能(MF)的条目和有关的 KEGG 通路, 运用微生信平台分别构建 GO 富集气泡图、Pathway 富集气泡图, 预测三叶青治疗慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的作用机制。

2.7. 活性成分与核心靶点的分子预测

取 degree 值排名前 5 位的活性成分与 PPI 网络中筛选出的前 10 个核心靶点依次分子对接, 验证其相互作用活性。

在 PubChem 数据库选择 “2D structure”, 保存活性成分的 SDF 格式, 使用 ChemBio3D Ultra 14.0 对其进行 “Minimize Energy” 计算分析, 转化为三维结构。经 AutoDock Tools 1.5.7 (<https://autodock.scripps.edu>) 软件 “Hydrogens-Add” 处理后, 转为 PDBQT 格式。

核心靶点蛋白的基因名从 Uniprot (<https://www.uniprot.org/>)数据库获取, 以“reviewed (SwissProt)” “Human” 为条件筛选, 其结构于 PDB 数据库中下载, 来源优先 “Homo sapiens”, 实验方法优先 “X-Ray DIFFRACTION”, 分辨率 <3Å, 保存为 PDB 文件。利用 pymol 3.1.6.1 (<https://www.schrodinger.com>) 软件剔除核心靶点蛋白的配体、水分子。经 AutoDock Tools 1.5.7 软件 “Hydrogens-Add” 处理后, 导出 PDBQT 格式, 并确定核心靶点的 “Grid Box” 大小, 以 GPF 格式保存。

采用 Vina、pymol 进行可视化分析, 对接结果取排名第一的最小自由能数据于微生信在线平台作热图绘制。

3. 结果

3.1. 三叶青活性成分的获取与筛选结果

查阅相关文献, 删除没有准确结构信息的成分后, 获得检索到三叶青化学成分共 314 个[13]-[16], 经筛选其中活性成分共 155 个, 取编号为 SYQ1-SYQ30 的活性成分进行展示, 见表 1。

Table 1. Information of active compounds form *Tetrastigma Hemsleyanum*
表 1. 三叶青活性成分信息

Number	Pubchem ID	degree	Chemical composition	SMILES
SYQ1	5312879	37	(+)-9,10,18-trihydroxy-12Z-octadecenoic acid	C(CCC[C@@H]([C@H](C/C=C\CCCCCO)O)O)CCCC(=O)O
SYQ2	102399992	37	(10e)-9,12,13-Trihydroxy-11-octadecenoic acid	CCCCC/C(=C\C(CC(CCCCCCCC(=O)O)O)O)O
SYQ3	44559173	22	(10e,15z)-9,12,13-Trihydroxyoctadeca-10, 15-dienoic acid	CC/C=C\CC(C/C=C/C(CCCCCCCC(=O)O)O)O
SYQ4	23872026	33	(11E,15Z)-9,10,13-Trihydroxy-11, 15-octadecadienoic acid	CC/C=C\CC/C=C/C(C(CCCCCCCC(=O)O)O)O
SYQ5	155906185	38	(11R,12S,13S,Z)-11,12, 13-Trihydroxyoctadec-9-enoic acid	CCCC[C@@H]([C@H]([C@@H](/C=C\CCCCCCCC(=O)O)O)O)O
SYQ6	24066906	34	(15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid	CC/C=C\CC(C(CCC(CCCCCCCC(=O)O)O)O)O
SYQ7	138757070	8	(2e)-9,10,18-Trihydroxy-2-octadecenoic acid	C(CCCCCO)CCCC(C(CCCCC/C=C/C(=O)O)O)O
SYQ8	10374851	14	(3R,4R,6S)-3,6-dihydroxy-1-menthene	CC1=C[C@@H]([C@H](C[C@@H]1O)C(C)C)O
SYQ9	-	14	(4R,5R)-4-hydroxy-5-isopropyl-2-methylcyclohex-2-enone	CC(C)[C@H]1C[C@H](O)C(C)=C[C@@H]1O
SYQ10	90658870	34	(9E)-17-hydroxy-octadec-9-enoate	CC(CCCCCC/C=C/CCCCCCCC(=O)[O-])O

3.2. 三叶青降低慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的潜在靶点预测

通过 Swiss Target Prediction 平台获取活性成分潜在作用靶点, 去除重复靶点后, 最终获得 735 个靶点。通过 Genecards 数据库获取慢性应激相关的异常肿瘤指标的潜在作用靶点, 经筛选后共得到 1527 个。

使用 Venny 2.1 在线工具, 将三叶青有效成分靶点和慢性应激相关异常肿瘤指标靶点进行映射, 获取三叶青降低慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的潜在靶点共 235 个, 见图 1。

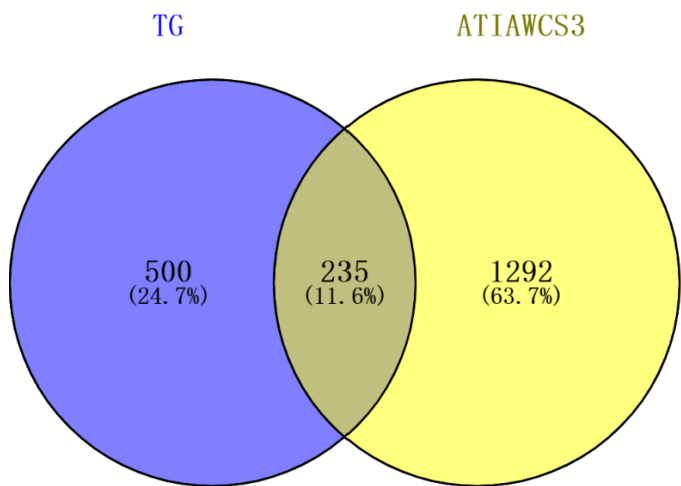
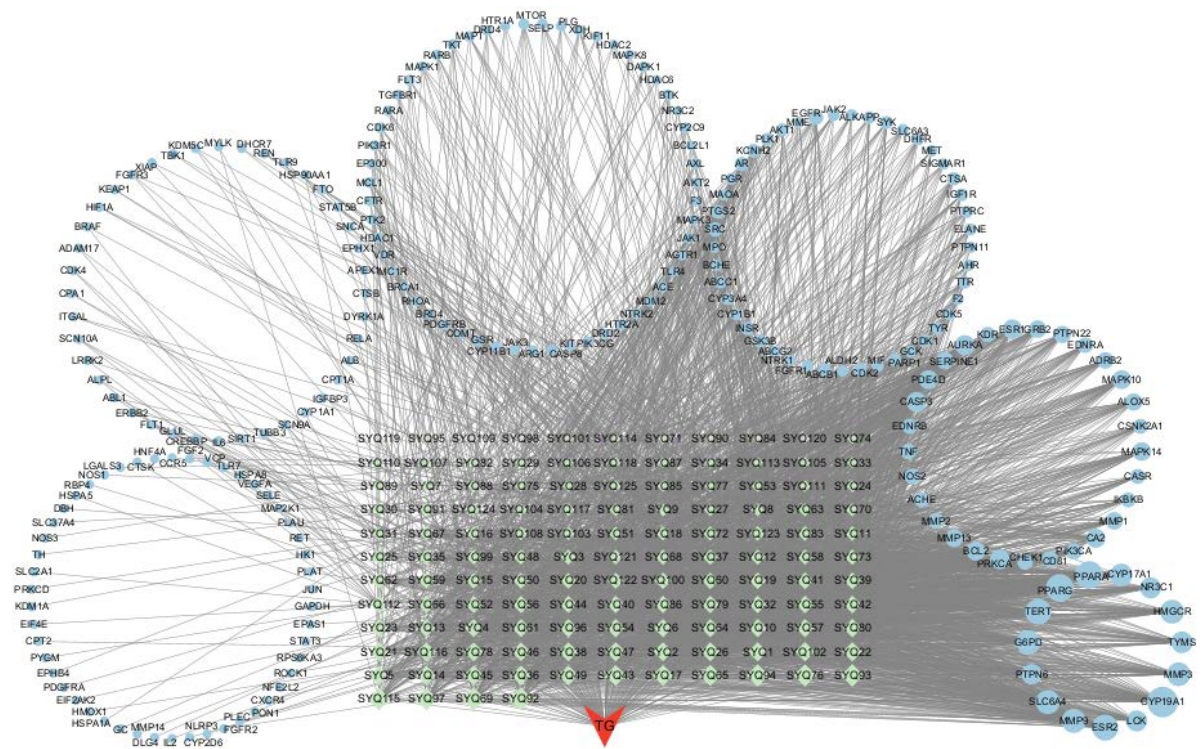


Figure 1. Venn Diagram of Intersection between *Tetrastigma hemsleyanum* and abnormal tumor indicators associated with chronic stress targets
图 1. 三叶青与应激相关肿瘤指标异常交集靶点 Venn 图

3.3. “三叶青 - 活性成分 - 靶点”网络构建及分析



注：椭圆形表示靶点，矩形表示药物成分，V 型节点代表药物。

Figure 2. *Tetrastigma hemsleyanum*-medicines-active compounds-target network diagram
图 2. “三叶青 - 活性成分 - 靶点”网络图

采用 Cytoscape 3.10.3 软件, 构建“三叶青-活性成分-靶点”相互作用网络, 见图 2, V 型、矩形、椭圆形节点分布代表三叶青、活性成分和对应靶点。对网络进行拓扑分析, 该网络包含 360 个节点(125 个活性成分、234 个靶点和 1 个药物)和 2858 条边, 节点的大小与 degree 值呈正比。degree 值排名前五的成分分别是: 异鼠李素(Isorhamnetin, SYQ92)、芹菜素(Apigenine, SYQ69)、木犀草素(luteolin, SYQ97)、槲皮素(querctetin, SYQ115)、山柰酚(kaempferide, SYQ93), 分别能与 52、52、50、50、50 个活性化合物发生作用。

3.4. PPI 网络的构建及潜在核心靶点的筛选

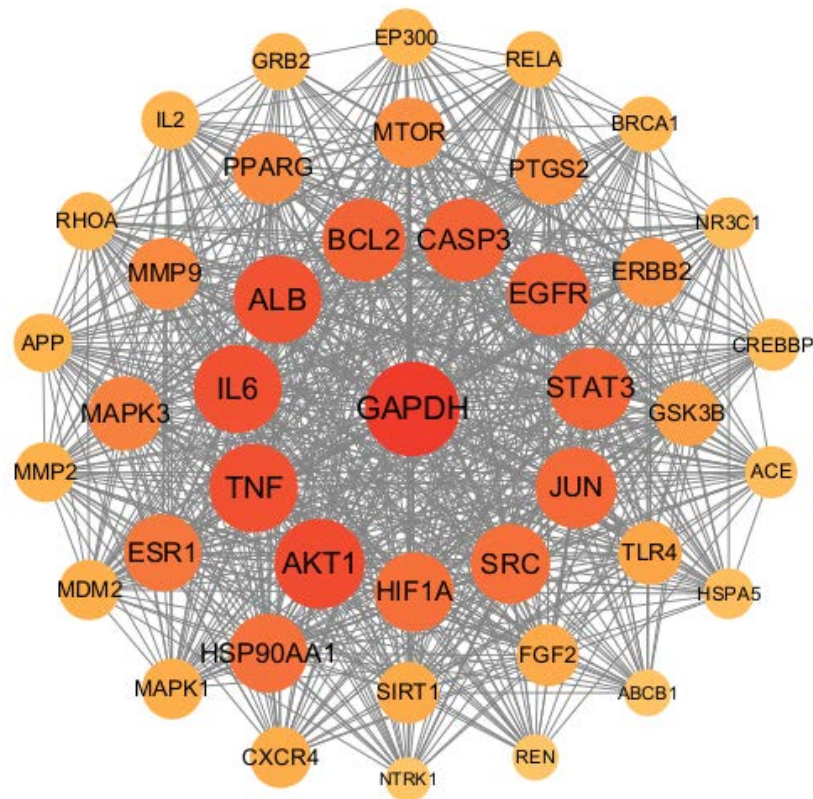


Figure 3. Protein-protein Interaction network
图 3. 蛋白相互作用网络

将三叶青降低慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的 235 个作用靶点导入 STRING 数据库, 得到蛋白相互作用关系, 将其导入 Cytoscape 3.10.3 软件建立 PPI 网络, 该网络包括 234 个节点和 6131 条边。经 centiscape 2.2 插件计算分析后, 选择 Closeness unDir ≥ 0.00238 、Betweenness unDir ≥ 193.58120 、Degree unDir ≥ 52.40171 的节点构建三叶青降低慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的关键网络, 如图 3。该关键网络包括 42 个节点和 739 条边, 节点的大小和颜色与 degree 值呈正比。以 Closeness unDir ≥ 0.003125 、Betweenness unDir ≥ 947.857178 、Degree unDir ≥ 147 为条件, 筛选出前 10 个的核心靶点分别是: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase, GAPDH)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT Serine/Threonine Kinase 1, AKT1)、肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factor, TNF)、白细胞介素 6 (Interleukin 6, IL6)、白蛋白(Albumin, ALB)、半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶(Caspase 3, CASP3)、B 淋巴细胞瘤-2 基因(BCL2 Apoptosis Regulator, BCL2)、表皮生长因子受体(Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR)、信息传导及转

录激活蛋白 3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3, STAT3)、JUN 原癌基因(Jun Proto-Oncogene, AP-1 Transcription Factor Subunit, JUN), 分别能与网络中 182、170、166、165、164、152、152、151、150、147 个蛋白产生相互作用关系, 其蛋白互作关系见图 4。

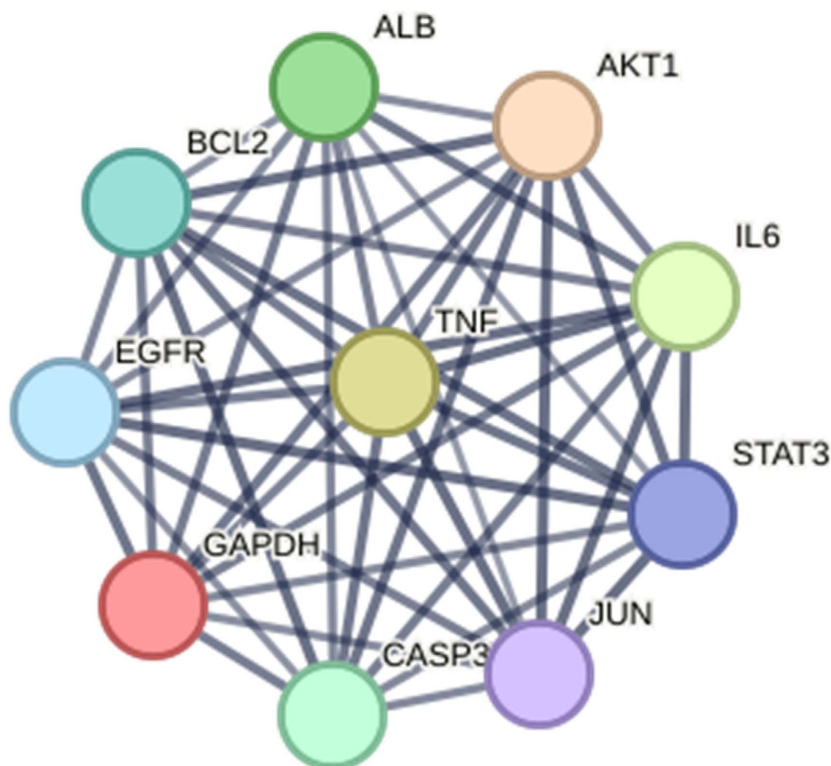


Figure 4. Protein network diagram of *Tetrastigma hemsleyanum* in the treatment of abnormal tumor indicators associated with chronic stress (Top 10)

图 4. 三叶青治疗慢性应激相关肿瘤指标异常相关蛋白网络图(PPI) (前 10 位)

3.5. 生物功能富集分析

通过 GO 和 KEGG 对 235 个共同靶点进行富集分析, 进一步阐明共有靶点潜在的作用机制。其中 GO 富集气泡图、Pathway 富集气泡图中基因在通路的富集程度用 Enrichment 表示, 纵轴表示富集的通路名称; 颜色刻度表示不同阈值的 p 值, 可以反映选区的靶基因与有关通路或功能的关联强度, p 值越小则表示该通路越显著; 点的大小表示对应每个通路的基因数量。

3.5.1. GO 富集分析

将三叶青药物主要成分基因与慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的疾病基因的 235 个交集基因导入至 David 数据库, 共得到 GO 富集条目 1449 个, 其中生物过程(BP) 1041 个、细胞组分(CC) 123 个、分子功能(MF) 285 个, 分别选择排名前 20 位的条目绘制气泡图, 结果见图 5。生物过程(BP)方面, 主要涉及小脑皮质形成、血管内皮生长因子激活的血小板衍生生长因子受体信号通路对细胞增殖的正调控、环化酶活性的正调控等; 细胞组成(CC)方面, 主要涉及包涵体、丝氨酸蛋白酶抑制剂复合物、内容酶体、IA 类磷脂酰肌醇 3-激酶复合物等; 分子功能(MF)方面, 主要涉及四氢生物嘌呤结合、一氧化氮合酶活性、受体-受体间相互作用、血管内皮生长因子结合、一氧化氮合酶调节因子活性等。说明三叶青可能通过影响上述生物功能发挥药效。

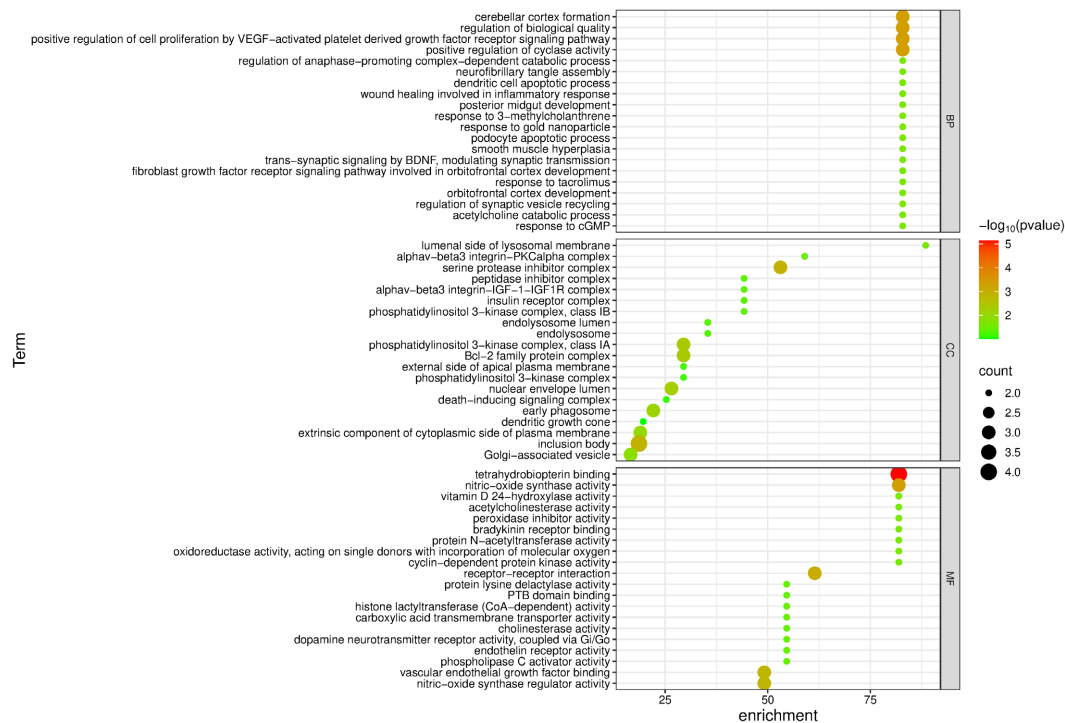


Figure 5. GO enrichment analysis bubble chart
图 5. GO 富集分析气泡图

3.5.2. KEGG 通路富集分析

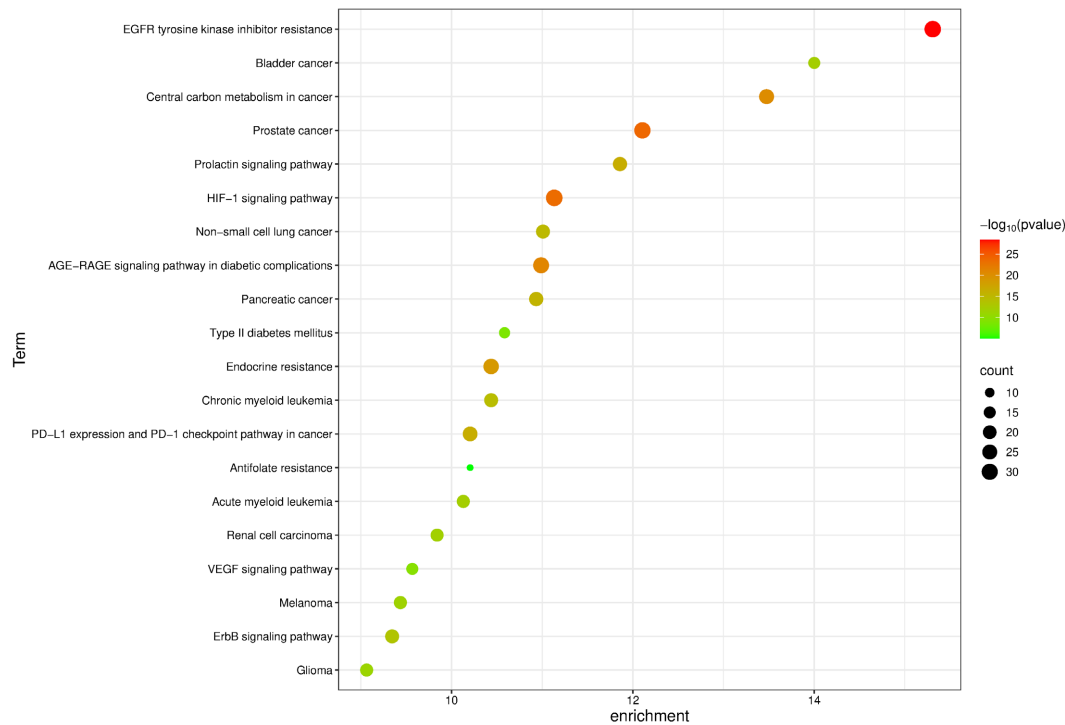


Figure 6. Bubble charts for KEGG enrichment analysis
图 6. KEGG 富集分析气泡图

运用 David 数据库进行 KEGG 富集分析，共得到 164 条相关的通路，选择排名前 20 位的条目绘制气泡图，结果见图 6。富集结果显示 HIF-1 信号通路、AGE-RAGE 信号通路、MAPK 信号通路、催乳素信号通路、PD-L1 在癌症中的表达和 PD-1 检查点通路、VEGF 信号通路、ErbB 信号通路与三叶青治疗慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的作用机制密切相关。

3.6. 分子对接结果

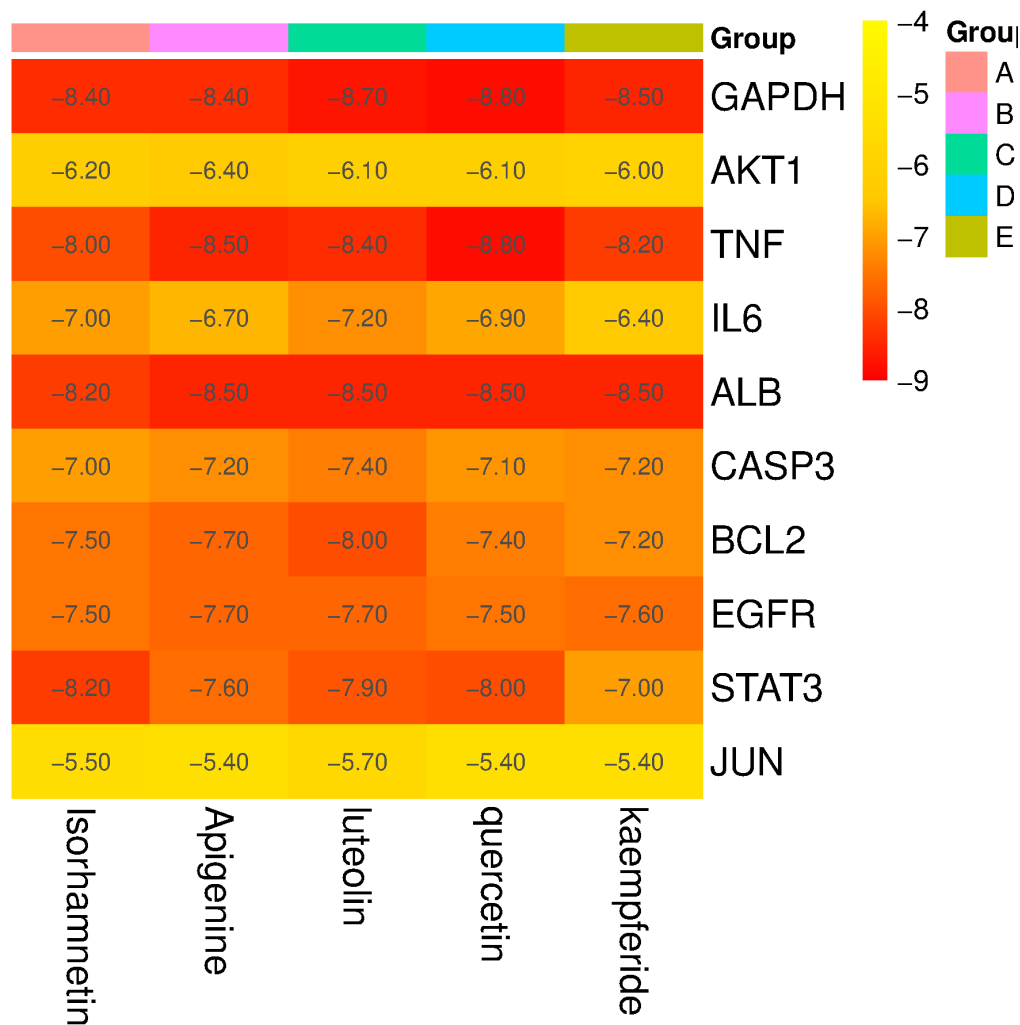
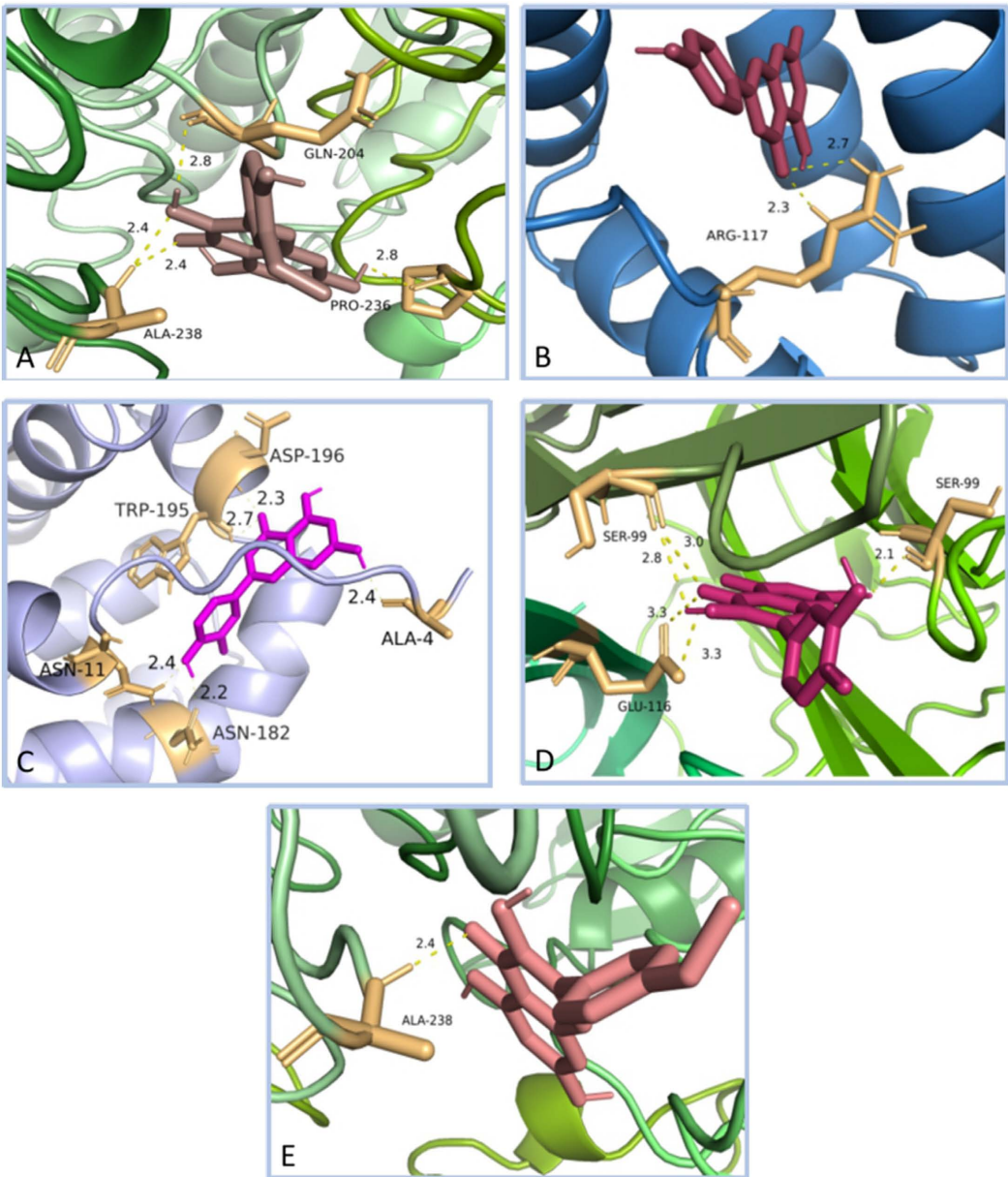


Figure 7. Thermogram analysis of molecular docking fraction
图 7. 分子对接分数的热图分析

依照在受体活性位点区域空间结构是否互补以及能量最小化原则，将受体与配体进行分子对接，探究二者之间是否可以相互作用，并寻找其最佳结合方式。根据上述结果，选取排名前 5 的活性成分与 10 个核心靶点蛋白配体依次进行分子对接，小分子与蛋白质结合作用的强弱用结合能评价。若值小于 0，则说明二者能自发结合，结合能越低，代表越易结合。经对接，得到的数据经过热图分析，结果如图 7 所示。活性成分和核心靶点相互作用的平均结合能低于-7.4 kcal·mol⁻¹，表明具有较强的结合活性。其中 GAPDH，TNF 与 quercetin 的对接结果表现出最高的结合亲和力，为-8.80 kJ/mol。使用 PyMol 对分子对接结果进行可视化分析，选取部分结果展示，见图 8。



注：A-E 分别是异鼠李素与 GAPDH、芹菜素与 ALB、木犀草素与 BCL2、槲皮素与 TNF、山柰酚与 GAPDH 的分子对接图。

Figure 8. Molecular docking model

图 8. 分子对接模型

4. 讨论

肿瘤标志物(Tumor marker, TM)主要由肿瘤本身产生或由于肿瘤的存在而导致机体产生,可用于肿瘤的筛查和肿瘤患者的复查、肿瘤发展程度及预后的判断、肿瘤治疗效果观察和评价等[17]。但是事实上,肿瘤标志物有多种来源,正常组织和良性疾病同样可以产生肿瘤标志物,且存在个体差异。随着肿瘤标志物检测在临床和体检中普及和出于对恶性肿瘤的恐惧,越来越多受检者愈发重视指标升高的现象,特别是由慢性应激引起的异常结果。慢性应激导致的肿瘤标志物升高已成为困扰人们健康的重要问题之一[18][19]。据研究表明,慢性应激通过诱导肾上腺能受体信号通路、调节多巴胺释放等多种途径影响神经

内分泌系统, 干扰 T 细胞功能等影响免疫相关因素, 长期激活 SNS 和 HPA 轴致其功能障碍, 诱导表观遗传改变 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重编程和非编码 RNA 变化等基因表达, 从而引起血清肿瘤标志物水平增高[20]。

三叶青作为一种被广泛使用多年的民间中草药, 对多种疾病都有重大疗效[15]。经药理学实验证明, 三叶青具有抗肿瘤、保护肝脏、抗病毒、抗炎、调节免疫的作用, 且基本无毒性[21]。

本研究运用网络药理学分析研究, 结果表明三叶青中含有的异鼠李素、芹菜素、木犀草素、槲皮素、山柰酚等主要活性成分可能是治疗慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的关键成分。有研究表明, 异鼠李素是一种具有多靶点抗肿瘤特性的天然类黄酮化合物, 其通过调节细胞周期、阻断 PI3K/AKT 通路、调节 MAPK 通路等多种途径, 抑制癌细胞增值, 从而发挥降低肿瘤指标的作用[22]; 异鼠李素还可以抑制去泛素化酶 USP7 的去泛素酶活性, 促进泛素介导的转录因子 YY1 降解, 间接地下调 PD-L1 通路的表达, 并抑制肝细胞癌(HCC)细胞中的上皮间质转化(EMT) [23]。芹菜素则可通过下调 mTOR 和 AKT 信号通路、抑制 mTOR 表达和 LC3 转化以诱导细胞自噬、减少 TPA 介导的致癌作用和 PKC 活性等, 多条通路协同作用以对抗肿瘤细胞[24], 还有研究表明芹菜素可能通过调节 p53-Bax-caspase-3 凋亡途径、通过靶向 β -连环蛋白和胰岛素样生长因子-I 信号通路以抑制肿瘤细胞的生长[25]。木犀草素可以通过抑制 MAPK、PI3K-Akt 等信号通路和 CDK2 等周期蛋白依赖性激酶活性以抑制癌细胞增殖, 通过激活 Caspase-3 和 Caspase-9 等胱天蛋白酶、上调 Fas 和 TNF-R1 等死亡受体的表达、下调 Bcl-2 和 Bcl-xL 等抗凋亡蛋白的表达以促进癌细胞凋亡, 减少血管内皮生长因子(VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的表达、抑制 MMP-2 和 MMP-9 等基质金属蛋白酶的活性以抑制肿瘤血管的生成, 通过下调 TNF- α 和 IL-6 等促炎细胞因子的表达以调控肿瘤微环境, 从而降低肿瘤标志物水平[26]。有相关研究说明, 槲皮素通过激活氧化应激通路、上调促细胞凋亡蛋白 Bax 和肿瘤细胞表面死亡受体 TNF- α 的表达、下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达等途径, 以减少癌细胞增值、诱导癌细胞凋亡、增强免疫系统杀死肿瘤细胞的能力, 从而发挥降低肿瘤标志物水平的作用[27]。Muhammad Imran 等研究学者认为, 山柰酚可通过阻断 HIF-1 α 、PI3K/Akt/mTOR 等信号通路, 上调促细胞凋亡蛋白 Bax 的表达、下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达, 上调肿瘤细胞表面死亡受体 TNF- α 的表达, 从而具有降低肿瘤标志物水平的作用[28]。

借助 PPI 网络互作分析, 发现 GAPDH、AKT1、TNF、IL6、ALB、CASP3、BCL2、EGFR、STAT3 和 JUN 是其核心靶点。王瑾等学者通过研究发现, GAPDH 作为最著名的管家蛋白之一, 在多种癌症类型中上调, 与免疫细胞的浸润呈负相关, 在多种癌症类型中充当致癌基因, 且与肿瘤患者的预后相关, GAPDH 在肿瘤组织中高表达的患者预后较差[29]。肿瘤坏死因子(TNF)是免疫的中枢调节因子, 参与先天性免疫和适应性免疫, 并有利于炎症的启动和维持。TNF 的表达和信号传导对于维持组织稳态和抵抗感染至关重要, 其失调会诱导病理损伤, 导致慢性炎症和组织损伤。TNF 通过 TNFR2 介导免疫调节和组织再生, 盛玉桥等[30]研究者表明, TNFR2 以直接和间接的方式在肿瘤进展的多方面发挥重要作用, 包括肿瘤细胞增殖、免疫监视的逃避、内皮细胞的激活和血管生成以及转移前环境的形成。且多项研究表明, 肿瘤组织中 TNFR2 的表达与晚期疾病进展和不良的临床结果相关[31]-[33]。血清白蛋白(ALB)作为血清蛋白质中存在最多、功能最重要的成分, 其目前已被广泛应用于反映机体营养状况的评估指标之一。实验结果证明, 治疗前患者血清中的 ALB 水平低与生存率低有关, 治疗前血清 ALB 水平的测量可用于临床试验, 以更好地确定癌症患者的基线风险[34]。本项研究发现三叶青成分中的活性物质可以作用于 AKT, 并通过抑制 PI3K-AKT 以阻断癌细胞存活信号传导, 通过下调 AKT 信号通路以发挥抗肿瘤的作用; KEGG 通路分析也表明三叶青活性成分降低慢性应激所致血清肿瘤标志物水平的作用机制与 PI3K-Akt 信号通路有关。三叶青活性化合物发挥降低慢性应激所致血清肿瘤标志物水平的作用涉及一些凋亡蛋白, 如 CASP3。CASP3 在程序性细胞死亡和验证中发挥重要作用, 能导致细胞内许

多其他具有关键功能的蛋白质裂解进而致使细胞凋亡,其活性的增加常被认为是细胞灭亡的标志,也是癌症治疗疗效的积极指标。周敏等研究学者通过实验探究表明,CASP3 通过参与调节 EMT 导致肿瘤细胞的侵袭和迁移,同时会促进癌症对放化疗的耐药性[35]。研究表明,EGFR 信号传导直接通过磷酸化限速酶促进癌细胞的脂肪酸和嘧啶的生物合成和葡萄糖的分解代谢,从而促进癌细胞增值;同时 EGFR 通过激酶依赖性和激酶非依赖性机制促进有氧糖酵解,为癌细胞提供了生存优势,帮助癌细胞的免疫逃逸[36]。在胰腺癌中,三叶青中所含有的木犀草素通过显著降低细胞蛋白的磷酸化和生长,从而调节 PTK 和 EGFR 的活性,并抑制 PTK 的活性,进而抑制 EGFR 的自磷酸化进而烯醇化酶的转磷酸化,以此降低慢性应激所致血清肿瘤标志物水平[26]。由此推测,三叶青可能通过多成分、多靶点与多途径协同作用,从而实现对慢性应激引起的血清肿瘤标志物水平升高的调控。

分子对接结果显示,槲皮素(SYQ115)与甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)和肿瘤坏死因子(TNF)表现出最高的结合亲和力,提示其对接活性和结合可能性较为突出。槲皮素是天然的糖酵解抑制剂,可以直接或间接地抑制 GAPDH 的酶活性,降低糖酵解的通量,直接切断肿瘤细胞快速增值所需的能量和生物合成原料的来源、影响 AKT 等多条促癌信号通路,从而抑制肿瘤细胞的生长。同时,槲皮素能抑制 NF- κ B 信号通路,在转录水平上减少 TNF 的合成;还可以干扰 TNF 与其受体的结合,阻断 TNF 的生物学效应,从而扭转慢性应激所助长的促肿瘤炎症微环境,以此降低慢性应激所致血清肿瘤标志物水平。

5. 总结

综上所述,本研究通过网络药理学方法预测了三叶青治疗慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的作用机制,结果表明三叶青治疗慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的主要活性成分可能是异鼠李素、芹菜素、木犀草素、槲皮素、山柰酚,其关键靶点为 GAPDH、AKT1、TNF、IL6、ALB、CASP3、BCL2、EGFR、STAT3、JUN,涉及的主要通路有 HIF-1 信号通路、AGE-RAGE 信号通路、MAPK 信号通路、催乳素信号通路、PD-L1 在癌症中的表达和 PD-1 检查点通路、VEGF 信号通路、ErbB 信号通路等。

本文提供了相关作用机制的研究思路和方法,同时也为后续三叶青治疗慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的进一步研究提供了参考依据。需要指出的是,网络药理学对主要成分和作用靶点之间的相互作用关系的分析,目前主要仍然处于生物信息学预测层面;因此,本研究对三叶青治疗慢性应激所致血清肿瘤标志物水平升高的作用机制的预测结果尚需通过后续的基础实验与临床试验予以进一步验证。

参考文献

- [1] 王辰,詹启敏. 肿瘤标志物临床应用进展[J]. 中华医学杂志, 2020, 100(38): 2993-2996.
- [2] 李娟,张军. 健康体检中肿瘤标志物假阳性结果的临床分析[J]. 中华健康管理学杂志, 2019, 13(2): 145-148.
- [3] 陈万青,郑荣寿. 中国恶性肿瘤流行情况及防控策略[J]. 中华肿瘤杂志, 2016, 38(1): 1-6.
- [4] 赵玉沛,丛玉隆. 临床检验结果解读与应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 215-220.
- [5] 刘晓红,朱鸣雷. 肿瘤标志物异常的老年患者临床管理策略[J]. 中华老年医学杂志, 2021, 40(5): 635-638.
- [6] 张伯礼,吴以岭. 中药现代化研究的关键科学问题与发展策略[J]. 中国工程科学, 2019, 21(2): 1-6.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 256-257.
- [8] 黄璐琦,陈敏. 三叶青的药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(12): 2451-2456.
- [9] 林瑞超,马双成. 中药活性成分筛选与作用机制研究技术体系[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(3): 385-392.
- [10] 陈凯先,蒋华良. 网络药理学: 从理论到实践[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2017: 32-45.
- [11] 刘昌孝. 中药网络药理学研究的现状与展望[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(6): 753-759.
- [12] 杨明,傅超美. 基于网络药理学的单味中药作用机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(10): 2253-2258.
- [13] Ji, T., Ji, W.W., Wang, J., Chen, H.J., Peng, X., Cheng, K.J., *et al.* (2021) A Comprehensive Review on Traditional Uses,

- Chemical Compositions, Pharmacology Properties and Toxicology of *Tetrastigma hemsleyanum*. *Journal of Ethnopharmacology*, **264**, Article ID: 113247. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113247>
- [14] Sun, Y., Qin, Y., Li, H., Peng, H., Chen, H., Xie, H., *et al.* (2015) Rapid Characterization of Chemical Constituents in Radix *Tetrastigma*, a Functional Herbal Mixture, before and after Metabolism and Their Antioxidant/Antiproliferative Activities. *Journal of Functional Foods*, **18**, 300-318. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.07.009>
 - [15] Hu, W., Zheng, Y., Xia, P. and Liang, Z. (2021) The Research Progresses and Future Prospects of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg: A Valuable Chinese Herbal Medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **271**, Article ID: 113836. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113836>
 - [16] Zhu, R., Xu, X., Ying, J., Cao, G. and Wu, X. (2020) The Phytochemistry, Pharmacology, and Quality Control of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels & Gilg in China: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, **11**, Article ID: 550497. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.550497>
 - [17] 吴健民. 对肿瘤标志物的再认识[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(1): 11-13.
 - [18] 吕杨. 非肿瘤患者血浆中肿瘤标志物升高的研究进展[J]. 海南医学, 2012, 23(23): 114-118.
 - [19] 刘明心, 谢雪梅, 李强, 等. 慢性应激与肿瘤的发生与演进[J]. 四川大学学报(医学版), 2021, 52(1): 39-44.
 - [20] Hong, H., Ji, M. and Lai, D. (2021) Chronic Stress Effects on Tumor: Pathway and Mechanism. *Frontiers in Oncology*, **11**, Article ID: 738252. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.738252>
 - [21] Chenly, G. (2012) Progress in Studies of Chemical Composition and Pharmacological Effects of *Tetrastigma* Is *Hemsleyani*. *Journal of Zhejiang Chinese Medical University*, **36**, 1368-1370.
 - [22] Mei, C., Liu, Y., Lyu, X., Jiang, Z., Liu, Z., Zhi, Y., *et al.* (2025) Advances in Isorhamnetin Treatment of Malignant Tumors: Mechanisms and Applications. *Nutrients*, **17**, Article No. 1853. <https://doi.org/10.3390/nu17111853>
 - [23] Liu, H., Han, J., Lv, Y., Zhao, Z., Zheng, S., Sun, Y., *et al.* (2023) Isorhamnetin and Anti-Pd-L1 Antibody Dual-Functional Mesoporous Silica Nanoparticles Improve Tumor Immune Microenvironment and Inhibit YY1-Mediated Tumor Progression. *Journal of Nanobiotechnology*, **21**, Article No. 208. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01967-3>
 - [24] Yoon, J.H., Kim, M. and Cho, J.Y. (2023) Apigenin: A Therapeutic Agent for Treatment of Skin Inflammatory Diseases and Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article No. 1498. <https://doi.org/10.3390/ijms24021498>
 - [25] Salehi, B., Venditti, A., Sharifi-Rad, M., Kręgiel, D., Sharifi-Rad, J., Durazzo, A., *et al.* (2019) The Therapeutic Potential of Apigenin. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article No. 1305. <https://doi.org/10.3390/ijms20061305>
 - [26] Imran, M., Rauf, A., Abu-Izneid, T., Nadeem, M., Shariati, M.A., Khan, I.A., *et al.* (2019) Luteolin, a Flavonoid, as an Anticancer Agent: A Review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **112**, Article ID: 108612. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108612>
 - [27] Li, X., Qi, L., Zhang, X., Wei, C., Yu, B. and Pei, T. (2025) Quercetin and Nano-Derivatives: Potential and Challenges in Cancer Therapy. *International Journal of Nanomedicine*, **20**, 6701-6720. <https://doi.org/10.2147/ijn.s509877>
 - [28] Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Aslam Gondal, T., Saeed, F., Imran, A., *et al.* (2019) Kaempferol: A Key Emphasis to Its Anticancer Potential. *Molecules*, **24**, Article No. 2277. <https://doi.org/10.3390/molecules24122277>
 - [29] Wang, J., Yu, X., Cao, X., Tan, L., Jia, B., Chen, R., *et al.* (2023) GAPDH: A Common Housekeeping Gene with an Oncogenic Role in Pan-Cancer. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, **21**, 4056-4069. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.07.034>
 - [30] Sheng, Y., Li, F. and Qin, Z. (2018) TNF Receptor 2 Makes Tumor Necrosis Factor a Friend of Tumors. *Frontiers in Immunology*, **9**, Article No. 1170. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01170>
 - [31] Cui, L.F., Guo, X.J., Wei, J., Liu, F.F., Fan, Y., Lang, R.G., *et al.* (2008) Overexpression of TNF- α and TNFR II in Invasive Micropapillary Carcinoma of the Breast: Clinicopathological Correlations. *Histopathology*, **53**, 381-388. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2008.03128.x>
 - [32] Dobrzycka, B., Terlikowski, S.J., Garbowicz, M., Niklińska, W., Bernaczyk, P.S., Nikliński, J., *et al.* (2010) Tumor Necrosis Factor-Alpha and Its Receptors in Epithelial Ovarian Cancer. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, **47**, 609-613. <https://doi.org/10.2478/v10042-008-0117-1>
 - [33] Yang, F., Zhao, Z. and Zhao, N. (2017) Clinical Implications of Tumor Necrosis Factor Receptor 2 in Breast Cancer. *Oncology Letters*, **14**, 2393-2398. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6410>
 - [34] Zhu, J., Li, L., Duan, Y., Wu, Y. and Wang, X. (2022) Prognostic Role of Pre-Treatment Serum ALB in Patients with Oropharyngeal Cancer: A Retrospective Cohort Study. *Frontiers in Oncology*, **12**, Article ID: 924210. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.924210>
 - [35] Zhou, M., Liu, X., Li, Z., Huang, Q., Li, F. and Li, C. (2018) Caspase-3 Regulates the Migration, Invasion and Metastasis of Colon Cancer Cells. *International Journal of Cancer*, **143**, 921-930. <https://doi.org/10.1002/ijc.31374>
 - [36] Sigismund, S., Avanzato, D. and Lanzetti, L. (2017) Emerging Functions of the EGFR in Cancer. *Molecular Oncology*, **12**, 3-20. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12155>