麻黄升麻汤调控 HSP90/GPX4 诱导食管鳞癌细胞铁死亡机制研究*

史文杰[1]，杨艺[2]，李姗[2]，黄春田[2]，贾雪超[3]，禄保平[4]

1. 河南中医药大学第二临床医学院，河南 郑州 450046；2. 河南中医药大学医学院，河南 郑州 450046；3. 河南中医药大学中医学院（仲景学院），河南 郑州 450046；4. 河南中医药大学肝病研究所，河南 郑州 450046

摘要：目的：采用网络药理学、分子对接及体外实验等方法探究麻黄升麻汤抑制食管鳞癌生长的分子机制。方法：通过 MTT、划痕愈合以及克隆形成实验检测麻黄升麻汤对食管鳞癌细胞 KYSE450 增殖、迁移及克隆能力的影响。通过 TCMSP 数据库获取麻黄升麻汤药物成分及靶点，通过 Uniprot 数据库获得靶点蛋白基因，通过 DisGeNet 数据库获得食管鳞癌靶点基因，取交集靶点，构建蛋白质－蛋白质相互作用（protein－protein interaction，PPI）网络图，获取核心靶点；通过 David 数据库与 Metascape 数据库进行基因本体（Gene Ontology，GO）、京都基因和基因组百科全书（Kyoto Encycloedia of Genes and Genomes，KEGG）分析。选取关键作用靶点与药物活性成分通过 Auto Dock Tools 软件进行分子对接。相应试剂盒检测麻黄升麻汤对 KYSE450 细胞活性氧（reactive oxygen species，ROS）、谷胱甘肽（glutathione，GSH）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）生成的影响。Western blot 检测麻黄升麻汤及 17－AAG 对 KYSE450 细胞热休克蛋白 90（heat shock protein 90，HSP90）、谷胱甘肽过氧化物酶 4（glutathione peroxidase 4，GPX4）、溶质载体家族 7 成员 11（recombinant solute carrier family 7 membier 11，xCT）蛋白水平的影响。结果：麻黄升麻汤抑制 KYSE450 细胞增殖、迁移、克隆形成能力。网络药理学分析获得交集靶点 139 个，PPI 网络分析提示核心靶点为热休克蛋白 90α 家族 A 类成员 1。GO 分析提示，生物进程在细胞对脂质的反应上富集，分子功能在与 HSP90 蛋白结合和氧化还原酶活性上富集。KEGG 分析提示麻黄升麻汤对食管鳞癌的治疗作用主要涉及癌症相关通路。分子对接结果提示麻黄升麻汤主要药物成分与核心靶点 HSP90 稳定结合。体外实验证明麻黄升麻汤促进 KYSE450 细胞 ROS、MDA 水平积累，抑制 GSH 合成及 HSP90、GPX4、xCT 蛋白表达（$P<0.05$）。HSP90 抑制剂 17－AAG 抑制 KYSE450 细胞内 HSP90、GPX4、xCT 蛋白表达（$P<0.05$）。结论：麻黄升麻汤通过靶向 HSP90 抑制 HSP90、GPX4、xCT 蛋白表达，抑制 GSH 生成，促进 ROS、MDA 生成，诱导铁死亡，抑制食管鳞癌细胞生长。

关键词：麻黄升麻汤；食管鳞状细胞癌；铁死亡；脂质过氧化；热休克蛋白 90；谷胱甘肽过氧化物酶 4
DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2026.04.125
中图分类号：R285　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999（2026）04－0840－10

Action Mechanism of Mahuang Shengma Decoction inducing Ferroptosis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma by Regulating HSP90/GPX4 Pathway

SHI Wenjie[1]，YANG Yi[2]，LI Shan[2]，HUANG Chuntian[2]，JIA Xuechao[3]，LU Baoping[4]

1. The Second Clinical Medical School，Henan University of Chinese Medicine，Zhengzhou Henan China 450046；2. School of Medicine，Henan University of Chinese Medicine，Zhengzhou Henan China 450046；3. Traditional Chinese Medicine School，Henan University of Chinese Medicine（Zhongjing College），Zhengzhou Henan China 450046；4. Institute of Hepatology，Henan University of Chinese Medicine，Zhengzhou Henan China 450046

Abstract：Objective：To investigate the molecular mechanism by which Mahuang Shengma Decoction inhibits the growth of esophageal

* **基金项目**：国家自然科学基金项目（82403082）；河南省科技攻关项目（182102310319）；河南省中医药科学研究专项课题项目（2024ZY2156）；河南省科技研发计划联合基金－培育项目（242301420092）；国家博士后基金委员会项目（GZC20230741）

squamous cell carcinoma based on network pharmacology, molecular docking, and in vitro experiments. Methods: MTT, wound healing, and colony formation assays were used to assess the effects of Mahuang Shengma Decoction on the proliferation, migration, and colony - forming ability of esophageal squamous cell carcinoma KYSE450 cells. The TCMSP database was used to obtain the drug components and targets of Mahuang Shengma Decoction, the Uniprot database was used to obtain target protein genes, and the DisGeNet database was used to obtain esophageal squamous cell carcinoma target genes. Intersection targets were selected, and a protein - protein interaction (PPI) network was constructed to obtain core targets. Gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analyses were performed using the DAVID and Metascape databases. Key target proteins and active drug components were subjected to molecular docking using AutoDock Tools software. Corresponding kits were used to detect the effects of Mahuang Shengma Decoction on reactive oxygen species (ROS), glutathione (GSH), and malondialdehyde (MDA) production in KYSE450 cells. Western blot was used to detect the effects of Mahuang Shengma Decoction and 17 - AAG on the protein levels of heat shock protein 90 (HSP90), glutathione peroxidase 4 (GPX4), and solute carrier family 7 member 11 (xCT) in KYSE450 cells. Results: Mahuang Shengma Decoction inhibited KYSE450 cell proliferation, migration, and clone formation ability. Network pharmacology analysis identified 139 intersecting targets, and PPI network analysis suggested that the core target was heat shock protein 90 alpha family class A member 1 (HSP90AA1). GO analysis indicated that biological processes were enriched in cellular response to lipids, and molecular functions were enriched in binding to HSP90 protein and oxidoreductase activity. KEGG analysis suggested that the therapeutic effect of Mahuang Shengma Decoction on esophageal squamous cell carcinoma mainly involved cancer - related pathways. Molecular docking results indicated that the main active components of Mahuang Shengma Decoction stably bound to the core target HSP90. In vitro experiments demonstrated that Mahuang Shengma Decoction promoted the accumulation of ROS and MDA levels in KYSE450 cells, inhibited GSH synthesis, and suppressed the expression of HSP90, GPX4, and xCT proteins ($P<0.05$). The HSP90 inhibitor 17 - AAG inhibited the expression of HSP90, GPX4, and xCT proteins in KYSE450 cells ($P<0.05$). Conclusion: Mahuang Shengma Decoction inhibits the expression of HSP90, GPX4, and xCT proteins, suppresses GSH production, promotes ROS and MDA generation, and induces ferroptosis to inhibit the growth of esophageal squamous cell carcinoma cells by targeting HSP90.

Key words: Mahuang Shengma Decoction; esophageal squamous cell carcinoma; ferroptosis; lipid peroxidation; heat shock protein 90; glutathione peroxidase 4

食管癌是世界范围内常见的恶性肿瘤，其病死率居于世界第 6 位，中国发病率占比 53.7%，病死率占比 55.3%，且以食管鳞状细胞癌（esophageal squamous cell carcinoma，ESCC，简称“食管鳞癌”）较为常见，占全部食管癌类型中的 90.4%[1]。目前对食管癌的治疗仍以手术为主，同时结合放化疗[2]。但由于疗效的有限性、严重的不良反应和耐药性等原因，食管癌 5 年生存率不足 20%[3]。因此，寻找有效且不良反应较低的药物，是治疗食管癌急需解决的问题。

麻黄升麻汤治疗厥阴经循行部位的肿瘤疗效显著。其组方含甘草、茯苓、白术和黄芩等药物，药理学研究表明，麻黄升麻汤组方中多种成分可以发挥抗食管癌作用。异甘草素、甘草酮 C、光甘草定等在甘草中提取的化合物，能通过诱导细胞周期停滞及凋亡抑制 ESCC 的生长[4-6]。茯苓水煎液可通过靶向周期蛋白依赖性激酶 1、甲状腺素受体结合因子 13 及微小染色体蛋白质 2 体内抑制 ESCC 移植瘤生长[7]。白术多糖可通过改善肿瘤微环境的免疫抑制状态及调控线粒体抑制食管癌生长[8-9]。黄芩苷通过减弱丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的表达从而发挥显著的抗食管癌作用[10]。

本研究前期通过细胞实验证实了麻黄升麻汤抑制 ESCC 细胞增殖、迁移及克隆能力，为进一步探索其分子机制，采用网络药理学分析及分子对接并结合体外实验进行验证，为其临床治疗 ESCC 提供实验依据。

1　材料

1.1　细胞　ESCC 细胞株 KYSE450 由河南中医药大学医学院病理生理学教研室冻存，细胞传至 3 代后进行实验。

1.2　药物与试剂　麻黄升麻汤按处方购自河南中医药大学第一附属医院，方药组成：白术 12 g，白芍 12 g，当归 10 g，茯苓 15 g，干姜 9 g，桂枝 10 g，黄芩 10 g，麻黄（先煎）9 g，石膏（包煎）20 g，升麻 12 g，天冬 12 g，玉竹 12 g，知母 10 g，炙甘草 6 g。以上药材均符合 2020 年版《中华人民共和国药典标准》，经河南中医药大学第一附属医院药学部陈天朝副主任药师鉴定为正品。坦内霉素（tanespimycin，17 - AAG）（5 mg）[aladdin，CAS 编号：75747 - 14 - 7]。RPMI1640（VivaCell Biosciences，批号：2323169）；

certified Fetal Bovine Serum(VivaCell Biosciences,批号:2408213);多聚甲醛(biosharp life science,批号:24018549);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天,批号:050923230823),SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒(meilunbio,批号:MA0159-Dec-20G);抗体[β-ACTIN(Zenbio,批号:250132,1∶5 000)、GPX4(proteintech,批号:67763-1-Ig,1∶4 000)、HSP90(proteintech,批号 60318-1-Ig,1∶50 000)、xCT(Zenbio,批号:Cat.#:R26116 1∶1 000)];5x 蛋白质上样缓冲液(MeilunBio,批号:MA0003-D)、飞克特超敏 ECL 发光液(meilunbio,批号:MA0186-1-Apr-06H),Marker(Thermo scientific,批号:01042490)。

1.3　仪器　二氧化碳培养箱(Thermo scientific,型号:371)、倒置显微镜(Olympus,型号:CKX41)、超净台(北京世安,型号:AC-CS15)、低速离心机(湘仪,型号:L530)、酶标仪(Bio-rad/Thermo,型号:iMark)、蛋白印迹曝光显影仪(Bio-rad,型号:Universal Hood Ⅲ)、电泳仪(JUNYI,型号:JY600E)、水平摇床(Scilogex,型号:SLK-O3000-S)。

1.4　数据库与软件　中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP,https://old.tcmsp-e.com/index.php);STRING 数据库(https://cn.string-db.org);Uniprot 数据库(https://www.uniprot.org);DisGeNet 数据库(https://www.disgenet.org);David 数据库(https://david.ncifcrf.gov);Metascape 数据库(http://metascape.org/gp/index.html#/main/step1);微生信在线平台(http:// www.bioinformatics.com.cn);RSCBPDB 数据库(https://www.rcsb.org)。

2　方法

2.1　药物制备　向药物中加入 8 倍体积的超纯水浸泡 40 min,煎煮 1 h 后过滤药液,滤渣回收加入 4 倍体积的超纯水继续熬制 1 h 后过滤药液,将两次滤液混匀后离心取上清液,分装于蒸发皿中于-80 ℃冷冻 24 h,于冻干机中制备为冻干粉,用 1640 培养基溶解配制为 50 g·L^{-1}母液,并用 0.22 μm 过滤器过滤后,-20 ℃保存备用。向 5 mg 17-AAG 中加入 853 μL DMSO,配制成 10 mmol·L^{-1}母液,-20 ℃ 保存备用。

2.2　细胞培养　KYSE450 细胞复苏后,置于无菌培养皿中,加入含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素的 1640 培养液,于 37 ℃、5% 二氧化碳培养箱中培养。

2.3　细胞增殖实验　取对数生长期的 KYSE450 细胞(每孔 5×10^3 个)接种到 96 孔板中,待细胞贴壁后分别用梯度浓度的麻黄升麻汤(0、0.125、0.25、0.5、1 g·L^{-1})处理,在加药 12 h、24 h、48 h 后加入 5 g·L^{-1} 的 MTT 溶液 20 μL,37 ℃避光孵育 4 h,弃去各孔中的液体再加入 150 μL DMSO 并室温震摇 10 min,酶标仪 450 nm 下检测 *OD* 值。

2.4　平板克隆实验　取对数生长期的 KYSE450 细胞(每孔 800 个)接种到六孔板中,待细胞贴壁后分别用梯度浓度的麻黄升麻汤(0、0.062 5、0.125、0.25、0.5、1 g·L^{-1})处理,细胞培养至镜下观察单细胞克隆数达 50 个后弃上清液,4% 多聚甲醛固定,0.1% 结晶紫染色,室温干燥后拍照。

2.5　划痕愈合实验　取对数生长期的 KYSE450 细胞(每孔 9×10^4 个)接种到 12 孔板中,待细胞融合度至 80% 左右时,用无菌 200 μL 枪头沿垂直所画标记直线方向在每孔内划两条痕。用梯度浓度的麻黄升麻汤(0、0.125、0.25、0.5、1 g·L^{-1})处理,于 0 h、24 h、48 h 在划痕同一位置拍照。

2.6　网络药理学分析　在 TCMSP 数据库检索麻黄升麻汤各中药成分及靶点蛋白,根据口服利用度≥30% 且类药性≥0.18 筛选有效成分。在 STRING 数据库和 Uniprot 数据库检索靶点基因。结果导入 CytoScape3.8.2 软件,构建“药物-成分-靶点”图,筛选核心化合物。DisGeNet 数据库以“Esophageal squamous cell carcinoma”为关键词检索,获得 ESCC 靶点基因。制作韦恩图,获得二者交集基因。用 STRING 数据库对交集基因进行蛋白互作分析,结果导入 Cytoscape 3.8.2 软件筛选出核心靶点。通过 David 数据库与 Metascape 数据库,对交集基因进行基因本体论(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。

2.7　分子对接验证　取“中药-成分-靶点”网络中度值前 7 位的活性成分,在 TCMSP 数据库获得活性成分的 2D 结构(mol2 格式),取 PPI 网络中核心靶点,在 RSCBPDB 数据库中下载其“PDB”格式的 3D 结构。利用 Auto Dock 4.2.6 软件进行分子对接,根据所得的结合能,评估蛋白质与小分子之间的结合潜力,然后使用 PyMol 软件对结果进行可视化展示。

2.8　活性氧含量测定　选取处于对数生长期的 KYSE450 细胞(每孔 3×10^5 个)接种至 6 孔板中,待细胞贴壁后分别用梯度浓度的麻黄升麻汤(0、0.25、0.5、1 g·L^{-1})处理,24 h 后加入终浓度为 10 μmol·

L^{-1}的 DCFH－DA 探针，37 ℃孵育 20 min，洗涤后镜下观察，并用 Image J 分析活性氧（reactive oxygen species，ROS）含量。

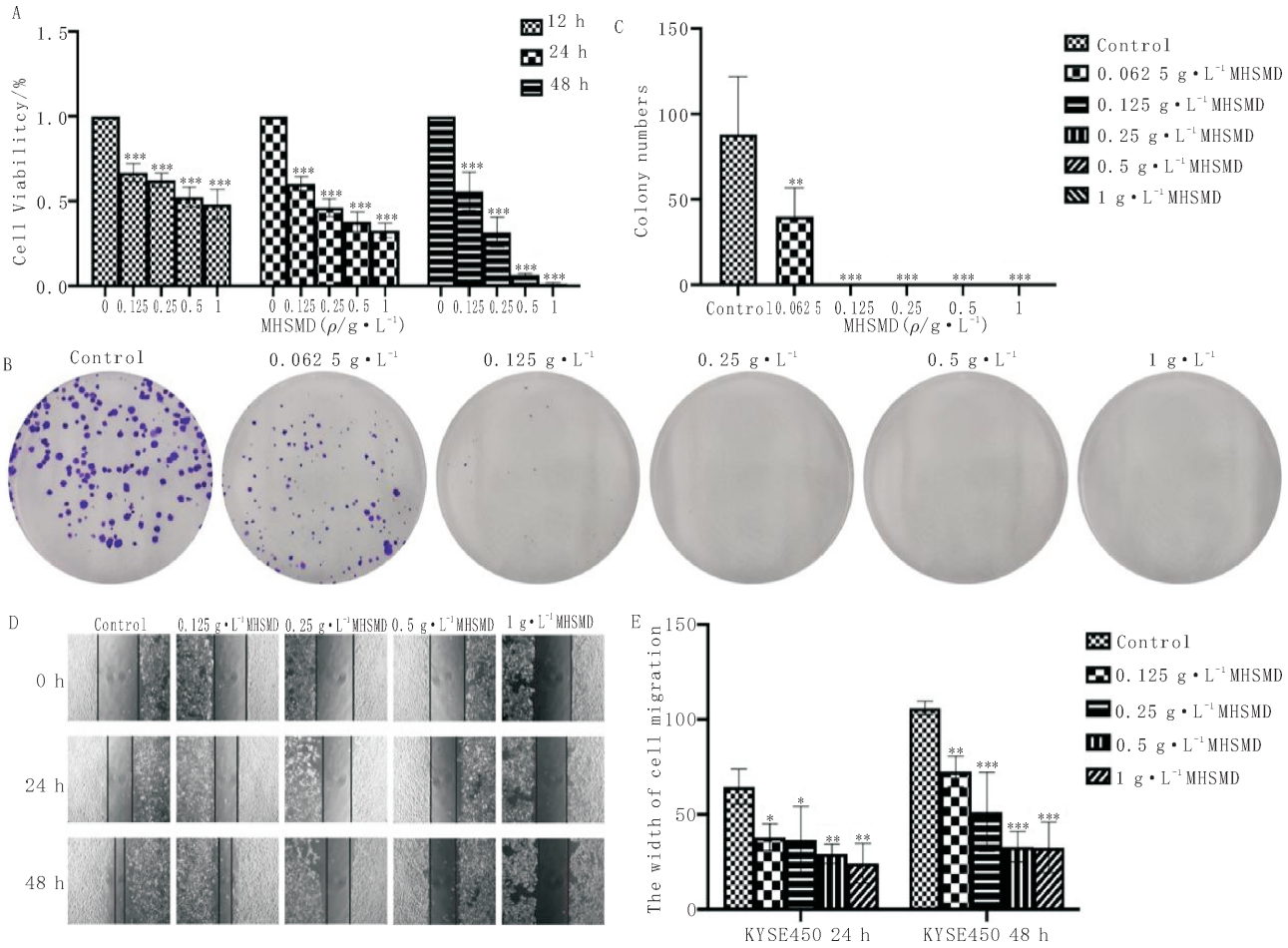
2.9　谷胱甘肽、丙二醛含量测定　收集药物干预 24 h 的细胞，用试剂盒中提取液提取内容物，离心后取上清液，加入反应液按试剂盒说明书处理后，谷胱甘肽（glutathione，GSH）于 412 nm 处测 *OD* 值。丙二醛（malondialdehyde，MDA）于 532 nm 及 600 nm 检测 *OD* 值。

2.10　Western blot 实验　收集细胞后离心弃上清液，加入细胞裂解液冰上裂解后离心取上清，测定蛋白浓度后按每 25 μL 样本含 50 μg 蛋白制样，电泳及转膜后室温封闭 2 h，洗膜后一抗 4 ℃孵育过夜，洗膜后二抗室温孵育 2 h，洗膜后于凝胶成像仪中滴加显影液曝光。

2.11　统计学方法　相关数据统计采用 Graphpad prism 10 软件进行分析，计量资料符合正态分布且方差齐，采用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，两组间比较采用 t 检验，$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3　结果

3.1　麻黄升麻汤抑制 KYSE450 细胞增殖、克隆及迁移能力　MTT 结果显示，麻黄升麻汤显著抑制 KYSE450 细胞的增殖能力且呈时间和浓度依赖性（$P < 0.05$）（图 1A）。平板克隆结果显示，麻黄升麻汤抑制 KYSE450 细胞的克隆形成能力，呈浓度依赖性（$P < 0.05$）（图 1B、1C）。细胞划痕实验结果显示，麻黄升麻汤抑制 KYSE450 细胞迁移能力，呈浓度依赖性（$P < 0.05$）（图 1D、1E）。



注：A：增殖统计图；B：平板克隆图；C：平板克隆统计图；D：平板划痕图；E：平板划痕统计图；麻黄升麻汤缩写为 MHSMD；与 Control 组比较，* $P < 0.05$，** $P < 0.01$，*** $P < 0.001$。

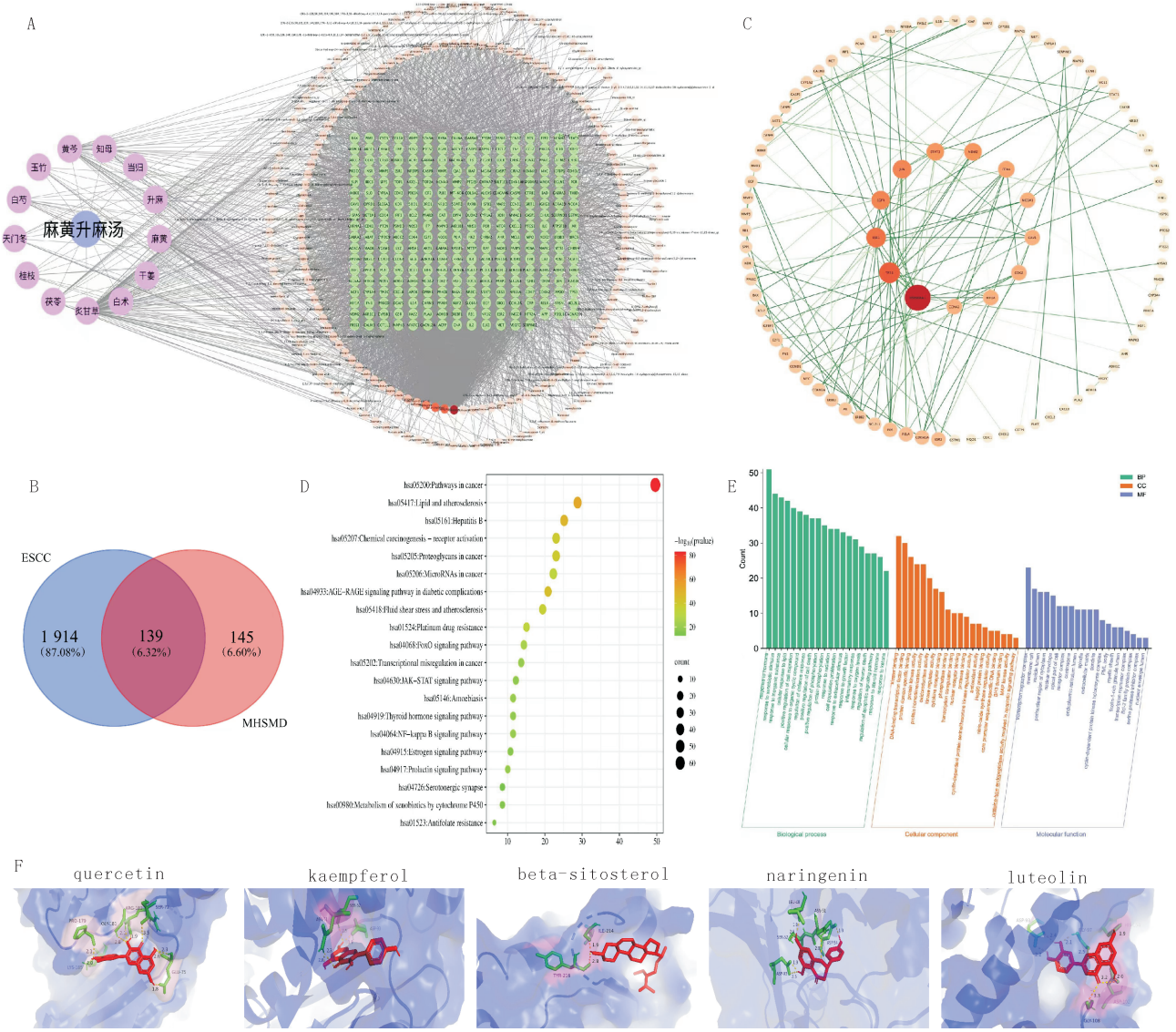
图 1　不同浓度麻黄升麻汤抑制 KYSE450 细胞增殖、克隆及迁移能力（$n = 3$）

3.2　网络药理学分析结果　TCMSP 数据库检索麻黄升麻汤活性成分潜在靶点 284 个，DisgeNet 数据库检索 ESCC 靶点基因 2 053 个，二者共 139 个交集靶点（图 2B）。PPI 互作网络图提示核心靶点为 HSP90AA1（图 2C，表 1）。将从“药物－成分－靶点”网络图获得的度值前 7 位的化合物与热休克蛋

白 90（heat shock protein 90，HSP90）（PDB ID：3T0H）进行分子对接，有 5 个化合物对接成功且结合活性高（图 2A、2F，表 3）。KEGG 分析共获得 183 条通路，富集度较高的通路主要与癌症及脂质相关（图 2D、表 2）。GO 分析共获得生物过程 924 条、细胞组成 122 条和分子功能 213 条，其中生物进程在细胞对脂质的反应上富集，而分子功能在与 HSP90 蛋白结合和氧化还原酶活性上富集（图 2E）。

表 1　核心靶点拓扑属性参数（前 5 条）

中文名	靶基因	紧密中心值	度值
热休克蛋白 90α	HSP90AA1	0.083 333 33	16
肿瘤蛋白 P53	TP53	0.090 909 09	11
雌激素受体 1	ESR1	0.244 444 44	10
表皮生长因子受体	EGFR	0.194 444 44	9
禽肉瘤病毒 17 的假定转化基因	JUN	0.222 222 22	9



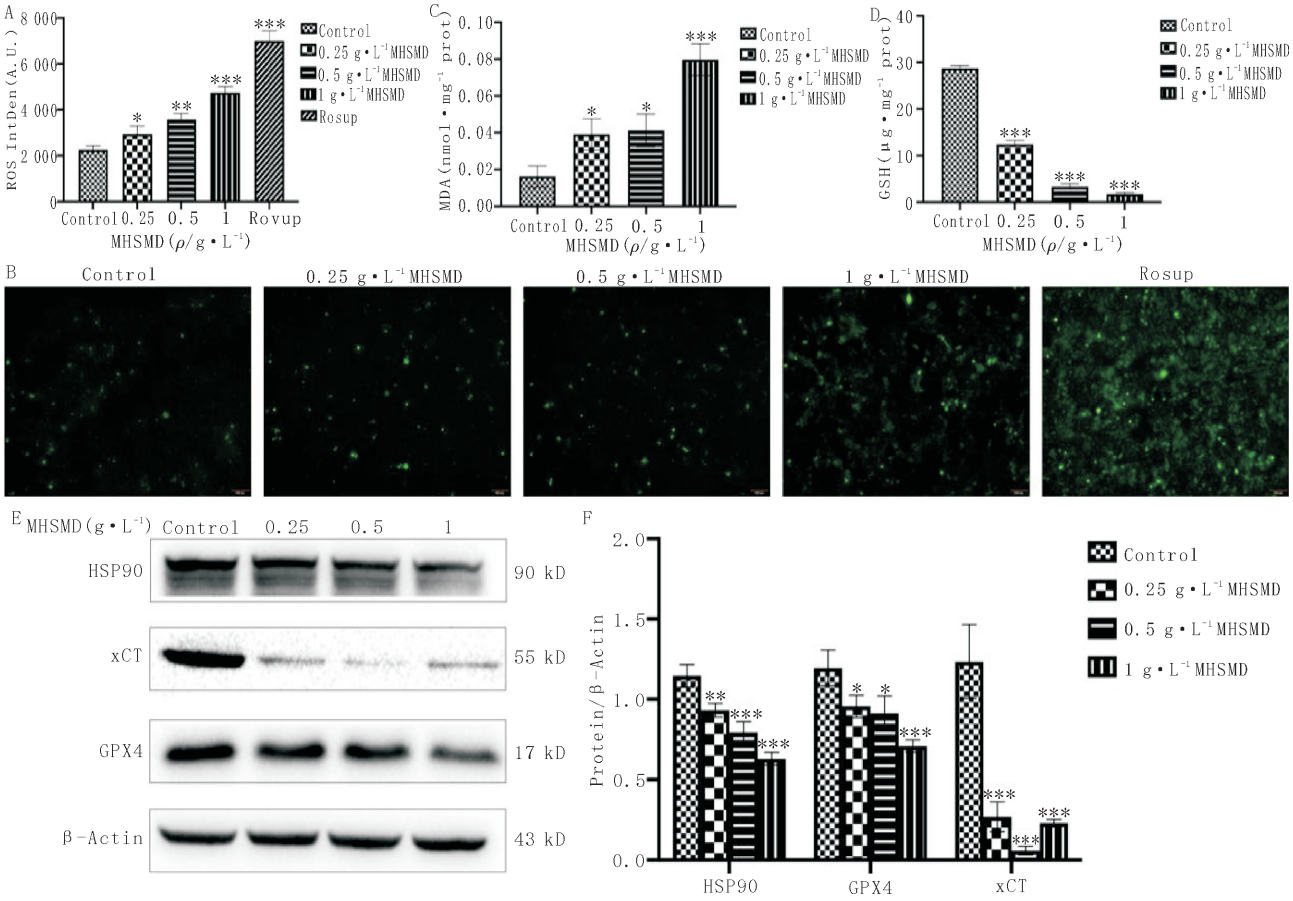
注：A：“药物－成分－靶点”网络图；B：韦恩图；C：PPI 互作网络图；D：KEGG 气泡图；E：GO 分析柱状图；F：活性成分与 HSP90 分子对接图。

图 2　网络药理学分析及分子对接

3.3　麻黄升麻汤促进 KYSE450 细胞铁死亡　ROS 及 MDA 含量测定结果显示，麻黄升麻汤促进 KYSE450 细胞 ROS 及 MDA 水平积累，呈浓度依赖性（$P<0.05$）（图 3A—C）。GSH 含量测定结果显

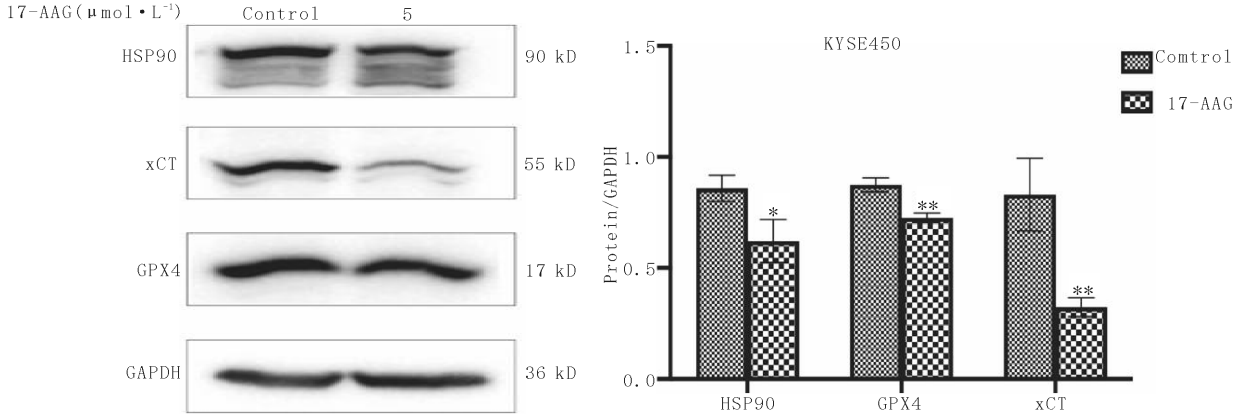
示，麻黄升麻汤抑制 KYSE450 细胞 GSH 水平，呈浓度依赖性（$P<0.05$）（图 3D）。Western blot 结果显示，麻黄升麻汤抑制 KYSE450 细胞 HSP90、谷胱甘肽过氧化物酶 4（glutathione peroxidase 4，GPX4）和溶质载体家族 7 成员 11（recombinant solute carrier family 7 membier 11，xCT）蛋白水平（$P<0.05$）（图 3E、3F）。

3.4　17－AAG 对 KYSE450 细胞 GPX4、HSP90、xCT 蛋白表达的影响　为了进一步明确麻黄升麻汤对食管癌 KYSE450 细胞的铁死亡诱导作用是通过抑制 HSP90 实现的，本研究设计了 HSP90 抑制剂 17－AAG 对照组，研究表明，5 μmol·L^{-1} 的 17－AAG 作用 2 h 能显著抑制 KYSE450 细胞 HSP90、GPX4、xCT 蛋白的表达水平（$P<0.05$）（图 4）。



注：A：ROS 生成统计图；B：ROS 荧光图；C：MDA 生成统计图；D：GSH 生成统计图；E：铁死亡相关蛋白表达水平图；F：铁死亡相关蛋白表达水平统计图；麻黄升麻汤缩写为 MHSMD；与 Control 组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$，*** $P<0.001$。

图 3　不同浓度麻黄升麻汤抑制 KYSE450 细胞生长的分子机制（$n=3$）



注：与 Control 组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$。

图 4　17－AAG 抑制铁死亡相关蛋白（$n=3$）

表 2　KEGG 通路富集分析(前 20 条)

通路名称	基因数	占百分比/%	Lg(P)
癌症相关信号通路	69	49.64	-82.90
血脂与动脉粥样硬化	40	28.78	-52.74
乙型肝炎	35	25.18	-48.43
受体激活与化学致癌	32	23.02	-38.80
癌症中的蛋白聚糖	32	23.02	-39.29
癌症中的微小 RNA	31	22.30	-31.81
糖尿病并发症中的 AGE - RAGE 信号通路	29	20.86	-44.17
流体剪切力与动脉粥样硬化	27	19.42	-35.81
铂类药物耐药	21	15.11	-31.83
FoxO 信号通路	20	14.39	-24.26
癌症中的转录失调	19	13.67	-19.32
JAK - STAT 信号通路	17	12.23	-17.61
阿米巴病	16	11.51	-19.66
甲状腺激素信号通路	16	11.51	-18.41
NF - κB 信号通路	16	11.51	-19.51
雌激素信号通路	15	10.79	-15.97
催乳素信号通路	14	10.07	-18.83
5 - 羟色胺能突触	12	8.63	-12.65
细胞色素 P450 对外源物的代谢	12	8.63	-14.74
抗叶酸药物耐药	9	6.47	-14.03

表 3　麻黄升麻汤主要活性成分与核心靶点 HSP90 分子对接结合能

主要活性成分	结合能/kcal · mol^{-1}
槲皮素	-5.77
山柰酚	-6.42
β - 谷甾醇	-8.16
柚皮素	-6.57
木犀草素	-6.28

4　讨论

中医药基于整体观和辨证论治的阴阳调和，在长期肿瘤防治的临床实践中展现出独特的治疗优势。《伤寒杂病论》首创的辨证论治体系奠定了床诊疗的基石，书中方证对应，同病异治和异病同治的灵活性对后世产生深远的影响。食管癌属中医学“噎膈”范畴，病位在食管，属胃气所主，病变涉及肝、脾、肾。现代中医理论认为，食管癌是阴火上乘食管日久，加重脾胃虚弱以及元气虚损，阴火郁久煎熬津液，使气滞、痰湿、瘀血等结滞食管，酿成癌瘤而发病[11]。麻黄升麻汤出自《伤寒论·辨厥阴病脉证并治》，可治疗“咽喉不利”的症状。研究表明，李东垣治阴火的核心法则在麻黄升麻汤组方结构中皆有体现，即甘温补中、升阳散郁[12]。麻黄升麻汤中麻黄、升麻、桂枝、干姜合用可发汗解表，升阳散郁；石膏、知母、茯苓、玉竹、天冬、黄芩、芍药等合用育阴清热，寒凉泻火；当归、白术、甘草、茯苓等温中补虚，益气健脾。此方集温、清、补、散于一体，有甘温补中、升阳散郁、寒凉泻火之功。食管位于厥阴经循行部位，根据“经气所过，主治所及”理论，足厥阴肝经气血运行与食管的生理病理密切相关[13]。麻黄升麻汤属于厥阴篇方剂，临床研究发现，麻黄升麻汤可以治疗晚期肺癌、复发腮腺癌以及喉癌等[14-15]。此外，麻黄升麻汤可以减轻肝癌肝动脉化疗栓塞术后的炎症反应，抑制炎性微环境下肿瘤的复发和转移[16-17]。食管、肺、腮腺、喉、肝均在厥阴经循行部位，揭示麻黄升麻汤治疗厥阴经循行部位肿瘤的潜在依据。在食管癌辨证上，上热下寒、寒热错杂证为晚期食管癌常见证型[13,18]。现代医家认为，麻黄升麻汤适用于治疗上热下寒，寒热错杂型厥阴病[12,19]。在食管癌临床治疗上，方中所含甘草、茯

苓、白术、当归、白芍等属于食管癌中医治疗的高频用药[20]。

铁死亡是一种依赖脂质过氧化的细胞死亡形式，其发生与细胞膜上脂质过氧化物的蓄积密切相关[21-22]。细胞中过量的亚铁离子与过氧化氢反应产生 ROS，过量的 ROS 会攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸，使细胞膜和胞内细胞器中的脂质因大量过氧化而破裂，导致细胞死亡[23]。GPX4 作为细胞内重要的过氧化物酶，可以针对性地还原过氧化的膜质，抑制细胞铁死亡的发生。GPX4 的活性受底物 GSH 影响。GSH 是一种由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸构成的三肽，增加 GSH 表达可抑制铁死亡[24]。System Xc(－)是一种依赖氯不依赖钠离子的胱氨酸－谷氨酸反转运蛋白，由轻链亚基 xCT 和重链亚基 SLC3A2 组成[25]。胱氨酸通过 System Xc(－)系统进入细胞后，会在细胞内被还原为半胱氨酸，为 GSH 的合成提供底物[26]。System Xc(－)/GSH/GPX4 途径是抑制铁死亡的重要机制，越来越多的证据表明，通过靶向该途径可促进铁死亡[27]。麻黄升麻汤方中含有黄芩、知母等药物。黄芩苷通过诱导核因子红细胞相关因子 2 降解，从而抑制下游靶点 GPX4 和 xCT 的表达，在骨肉瘤细胞中诱导铁死亡[28]。知母皂苷Ⅲ同样可以靶向 HSP90 降解 GPX4，在非小细胞肺癌中引发铁死亡[29]。

HSP90 是依赖于 ATP 的分子，具有内在的 ATPase 活性，帮助蛋白质折叠、底物蛋白质成熟和蛋白质运输[30]。作为分子伴侣，HSP90 参与众多生物进程。其细胞质亚型 HSP90α 的分泌被认为是侵袭性和肿瘤转移的基本先决条件[31]。研究表明，HSP90AA1 表达的升高在结直肠癌、胶质瘤、下咽鳞状细胞癌和乳腺癌中与不良预后相关[32-35]。分子对接结果提示，麻黄升麻汤中的核心化合物槲皮素、木犀草素等与 HSP90 具有较稳定的结合活性。研究证实，槲皮素和 5－氟尿嘧啶联用能显著抑制食管癌生长并引起细胞凋亡[36]。此外，槲皮素可通过调节辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞平衡从而抑制小鼠食管癌的生长[37]。木犀草素可显著减弱紫杉醇抗性癌细胞的干细胞样特性[38]。HSP90 底物众多，可通过影响蛋白的稳定性参与铁死亡的调控。研究表明，抑制 HSP90 能诱导共济失调毛细血管扩张突变激酶多聚泛素化和蛋白酶体降解，增加铁蛋白的重链、轻链和膜铁转运蛋白的水平，并导致细胞不稳定铁池的升高[39-41]。抑制 HSP90 还可上调激活转录因子 3 的表达抑制 System Xc(－)促进细胞铁死亡[42-43]。

综上所述，麻黄升麻汤抑制 HSP90 蛋白水平通过两种途径诱导铁死亡抑制食管鳞癌细胞生长。首先，抑制 xCT 蛋白表达水平，可直接抑制食管癌细胞 System Xc(－)并影响胱氨酸的转运，抑制细胞内 GSH 的合成，从底物水平间接抑制 GPX4 的抗脂质过氧化能力；其次，抑制 GPX4 蛋白表达水平，直接减弱 GPX4 的抗脂质过氧化能力。细胞抗脂质过氧化能力减弱，引发 ROS 及 MDA 大量生成，加重发生于膜质上脂质过氧化水平，促进 ESCC 细胞铁死亡抑制食管鳞癌细胞的生长。

参考文献：

[1] MORGAN E, SOERJOMATARAM I, RUMGAY H, et al. The global landscape of esophageal squamous cell carcinoma and esophageal adenocarcinoma incidence and mortality in 2020 and projections to 2040: new estimates from GLOBOCAN 2020[J]. Gastroenterology, 2022, 163(3): 649－658.

[2] DI PIETRO M, CANTO M I, FITZGERALD R C. Endoscopic management of early adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the esophagus: screening, diagnosis, and therapy[J]. Gastroenterology, 2018, 154(2): 421－436.

[3] ZHANG H W, ZHANG J, LUAN S Y, et al. Unraveling the complexity of regulated cell death in esophageal cancer: from underlying mechanisms to targeted therapeutics[J]. Int J Biol Sci, 2023, 19(12): 3831－3868.

[4] YE L P, ZHANG J J, ZHANG Y, et al. Isoliquiritigenin suppressed esophageal squamous carcinoma growth by blocking EGFR activation and inducing cell cycle arrest[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 9259852.

[5] KWAK A W, CHOI J S, LIU K D, et al. Licochalcone C induces cell cycle G1 arrest and apoptosis in human esophageal squamous carcinoma cells by activation of the ROS/MAPK signaling pathway[J]. J Chemother, 2020, 32(3): 132－143.

[6] 杨丽娜，侯亚琼. 光甘草定调节 JAK2/STAT3 信号通路对

食管癌细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移的影响[J]. 药物评价研究,2024,47(9):2049 – 2057.

[7]蒋向辉,徐玉平. 基于加权基因共表达网络分析挖掘茯苓抗食管癌作用靶点[J]. 华中师范大学学报:自然科学版,2023,57(4):561 – 575.

[8]韩懿存,陈玉龙,范修琦,等. 白术多糖通过靶向 miR – 34a 抑制食管癌细胞免疫检查点 PD – L1 表达的机制研究[J]. 中国中药杂志,2022,47(6):1658 – 1665.

[9]FENG Y Y,JI H Y,DONG X D,et al. An alcohol – soluble polysaccharide from Atractylodes macrocephala Koidz induces apoptosis of Eca – 109 cells[J]. Carbohydr Polym,2019,226:115136.

[10]符鑫,彭鑫,黄婷婷,等. 黄芩苷通过 miR – 126 – 5p 调节 WEE1 对食管癌细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭的影响[J]. 中国老年学杂志,2024,44(11):2693 – 2698.

[11]严静,谢胜,葛来安,等. 基于阴火理论探讨反流性食管炎“炎 – 癌”转化与中医药防治思路[J]. 中国中西医结合消化杂志,2025,33(3):320 – 325.

[12]王也民,杨新栎,刘辰昊,等. 论析麻黄升麻汤与阴火的联系性[J]. 中华中医药杂志,2024,39(8):3919 – 3922.

[13]袁帆,刘培民. 从厥阴论治晚期寒热错杂型食管癌[J]. 山东中医杂志,2022,41(12):1276 – 1279.

[14]张海宇,林家冉,刘文科. 仝小林教授运用麻黄升麻汤临床思路总结及验案举隅[J]. 时珍国医国药,2019,30(10):2505 – 2507.

[15]谢利,谢刚,常文明,等. 基于厥阴病理论应用麻黄升麻汤治疗晚期肺癌经验[J]. 国医论坛,2023,38(3):54 – 56.

[16]余静芳,周晓玲,陈峭,等. 麻黄升麻汤治疗乙肝相关性原发性肝癌 TACE 术后栓塞综合征的疗效观察[J]. 辽宁中医药大学学报,2018,20(3):136 – 139.

[17]李灿,周晓玲,陈峭,等. 麻黄升麻汤治疗原发性肝癌 TACE 术后患者的疗效观察[J]. 时珍国医国药,2018,29(1):114 – 116.

[18]李丹丹,高小玲,魏雨濛,等. 基于数据挖掘分析食管癌中医证型及组方规律[J]. 中医学报,2023,38(8):1798 – 1803.

[19]赵书亚,陈舒怡,舒琦瑾. 基于寒热错杂理论探析恶性肿瘤病机及其经方辨治[J]. 浙江中医药大学学报,2023,47(10):1204 – 1208.

[20]东红阳,彭孟凡,安一珂,等. 基于数据挖掘的近十年中医治疗食管癌用药宏观规律[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(20):160 – 168.

[21]STOCKWELL B R. Ferroptosis turns 10:Emerging mechanisms,physiological functions,and therapeutic applications[J]. Cell,2022,185(14):2401 – 2421.

[22]TANG D L,CHEN X,KANG R,et al. Ferroptosis:molecular mechanisms and health implications[J]. Cell Res,2021,31(2):107 – 125.

[23]MAIMAITIZUNONG R,WANG K,LI H. Ferroptosis and its emerging role in esophageal cancer[J]. Front Mol Biosci,2022,9:1027912.

[24]ROCHETTE L,DOGON G,RIGAL E,et al. Lipid peroxidation and iron metabolism:two corner stones in the homeostasis control of ferroptosis[J]. Int J Mol Sci,2022,24(1):449.

[25]蒋楠,杜立达,孔德文,等. 胱氨酸/谷氨酸反向转运体作为药物靶点的研究进展[J]. 药学学报,2022,57(6):1621 – 1629.

[26]解放,刘楠. 半胱氨酸代谢途径调控与肿瘤治疗新策略[J]. 中国药科大学学报,2021,52(5):522 – 528.

[27]LI H O,SUN Y S,YAO Y M,et al. USP8 – governed GPX4 homeostasis orchestrates ferroptosis and cancer immunotherapy[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2024,121(16):e2315541121.

[28]WEN R J,DONG X,ZHUANG H W,et al. Baicalin induces ferroptosis in osteosarcomas through a novel Nrf2/xCT/GPX4 regulatory axis[J]. Phytomedicine,2023,116:154881.

[29]ZHOU C,YU T,ZHU R,et al. Timosaponin AⅢ promotes non – small – cell lung cancer ferroptosis through targeting and facilitating HSP90 mediated GPX4 ubiquitination and degradation[J]. Int J Biol Sci,2023,19(5):1471 – 1489.

[30]WU J M,LIU T E,RIOS Z,et al. Heat shock proteins and cancer[J]. Trends Pharmacol Sci,2017,38(3):226 – 256.

[31]ZUEHLKE A D,BEEBE K,NECKERS L,et al. Regulation and function of the human HSP90AA1 gene[J]. Gene,2015,570(1):8 – 16.

[32]GAO T H,GU G Y,TIAN J X,et al. LncRNA HSP90AA1 – IT1 promotes gliomas by targeting miR – 885 – 5p – CDK2 pathway[J]. Oncotarget,2017,8(43):75284 – 75297.

[33]LIU H Z,ZHANG Z H,HUANG Y,et al. Plasma HSP90AA1 predicts the risk of breast cancer onset and distant metastasis[J]. Front Cell Dev Biol,2021,9:639596.

[34] TANG F X, LI Y S, PAN M, et al. HSP90AA1 promotes lymphatic metastasis of hypopharyngeal squamous cell carcinoma by regulating epithelial – mesenchymal transition [J]. Oncol Res, 2023, 31(5): 787 – 803.

[35] ZHANG M N, PENG Y N, YANG Z W, et al. DAB2IP down – regulates HSP90AA1 to inhibit the malignant biological behaviors of colorectal cancer [J]. BMC Cancer, 2022, 22(1): 561.

[36] ALI MIRAZIMI S M, DASHTI F, TOBEIHA M, et al. Application of quercetin in the treatment of gastrointestinal cancers [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 860209.

[37] 郭政, 唐艳萍, 李明莉, 等. 槲皮素改善 4 – 硝基喹啉 – 1 – 氧化物诱导小鼠食管癌作用机制研究[J]. 现代中药研究与实践, 2023, 37(4): 24 – 29.

[38] ZHAO J Z, LI L L, WANG Z J, et al. Luteolin attenuates cancer cell stemness in PTX – resistant oesophageal cancer cells through mediating SOX2 protein stability [J]. Pharmacol Res, 2021, 174: 105939.

[39] AKI T, UEMURA K. Cell death and survival pathways involving ATM protein kinase [J]. Genes, 2021, 12(10): 1581.

[40] CHEN P H, TSENG W H, CHI J T. The intersection of DNA damage response and ferroptosis – a rationale for combination therapeutics [J]. Biology, 2020, 9(8): 187.

[41] PENNISI R, ANTOCCIA A, LEONE S, et al. Hsp90α regulates ATM and NBN functions in sensing and repair of DNA double – strand breaks [J]. FEBS J, 2017, 284(15): 2378 – 2395.

[42] WANG L Y, LIU Y C, DU T T, et al. ATF3 promotes erastin – induced ferroptosis by suppressing system Xc [J]. Cell Death Differ, 2020, 27(2): 662 – 675.

[43] HACKL C, LANG S A, MOSER C, et al. Activating transcription factor – 3 (ATF3) functions as a tumor suppressor in colon cancer and is up – regulated upon heat – shock protein 90 (Hsp90) inhibition [J]. BMC Cancer, 2010, 10: 668.

收稿日期: 2025 – 04 – 16

作者简介: 史文杰(1993 –), 男, 河南济源人, 硕士研究生, 研究方向: 中医药防治肝胆脾胃疾病的研究。

通信作者: 禄保平(1971 –), 男, 河南许昌人, 医学博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 中医药防治肝胆脾胃疾病的研究。E – mail: lbp1921@ sohu. com

编辑: 纪彬