DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20241106.005
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20241106.1701.010

基于Caspase-4/GSDME通路介导的细胞焦亡探讨桂枝茯苓胶囊对卵巢癌细胞周期的作用机制

赵 磊[1],郭 琦[1]✉,蔡萧君[1],吴心力[1],陈宇菲[2]
(1.黑龙江省中医药科学院,哈尔滨 黑龙江 150036;2.黑龙江中医药大学附属第一医院,哈尔滨 黑龙江 150040)

[摘要] **目的**:观察桂枝茯苓胶囊对Caspase-4/GSDME通路介导的细胞焦亡的影响,从而阐明其调控细胞周期治疗卵巢癌的分子机制。**方法**:人卵巢癌细胞株SKOV3分为空白组、桂枝茯苓胶囊低、中、高剂量组和抑制剂组,并对相应的药物进行干预。分别采用CCK8法检测SKOV3细胞活性;ELISA法检测乳酸脱氢酶活性;流式细胞术检测细胞周期分布和细胞焦亡水平;Western blot法检测Caspase-4/GSDME通路和细胞周期相关蛋白的表达。**结果**:与空白组相比,桂枝茯苓能显著抑制SKOV3细胞活性,降低细胞上清中L-LDH的活性和S期比例,增加G0/G1期比例,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。此外,桂枝茯苓能显著下调SKOV3细胞中CDK4、CDK6、CyclinD1的表达和p-Rb/Rb、cleaved Caspase-4/Caspase-4、cleaved GSDME/GSDME的比值,降低Caspase-1$^+$PI$^+$SKOV3细胞比例,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。**结论**:桂枝茯苓胶囊通过抑制Caspase-4/GSDME信号通路的激活,降低细胞焦亡水平,从而诱导G0/G1细胞周期阻滞,达到治疗卵巢癌的作用。

[关键词] 桂枝茯苓胶囊;Caspase-4/GSDME通路;细胞焦亡;细胞周期;卵巢癌
[中图分类号] R285 [文献标志码] A [文章编号] 2097-5953(2025)03-0193-07

Mechanism of Guizhi Fuling capsule in regulating ovarian cancer cell cycle *via* Caspase-4/GSDME pathway-mediated pyroptosis

ZHAO Lei[1], GUO Qi[1]✉, CAI Xiaojun[1], WU Xinli[1], CHEN Yufei[2]
(1. *Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine*, *Harbin* 150036, *China*; 2. *The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine*, *Harbin* 150040, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the Postdoctoral Research Funds of Heilongjiang Province* (*LBH-Z22275*)
[*Author*]: *ZHAO Lei*, *PhD.*, *E-mail*: 1547376329@qq.com.
[*Correspondence to*]: *GUO Qi*, *PhD.*, *E-mail*: *guoqi*20232023@163.com.
Received: 2024-07-13 *Revised*: 2024-10-20 *JHMU*, 2025;31(3):193-199

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Guizhi Fuling capsule on Caspase-4/GSDME pathway-mediated pyroptosis and to elucidate its molecular mechanism in regulating the cell cycle for the treatment of ovarian cancer. Methods: Human ovarian cancer cell line SKOV3 was divided into the blank group, the low, medium, and high dose Guizhi Fuling capsule groups, and the inhibitor group, with corresponding drug interventions. Cell viability was assessed using CCK8 assay; lactate dehydrogenase activity in the cell supernatant was measured by ELISA; cell cycle distribution and pyroptosis levels were analyzed using flow cytometry; and the expression of proteins related to Caspase-4/GSDME pathway and cell cycle was detected by Western blot. Results: Compared to the blank group, Guizhi Fuling capsule significantly inhibited SKOV3 cell viability, reduced the activity of LDH in the cell supernatant and the percentage of cells in the S phase, while increasing the proportion of cells in the G_0/G_1 phase, with statistically significant differences ($P<0.01$). Additionally, Guizhi Fuling capsule significantly downregulated the expression of CDK4, CDK6, Cyclin D1, and the ratio of p-Rb/Rb, cleaved Caspase-4/Caspase-4, and cleaved GSDME/GSDME, as well as

[基金项目] 黑龙江省博士后专项经费(LBH-Z22275)
[通讯作者] 赵磊,博士,E-mail:1547376329@qq.com。
[通讯作者] 郭琦,博士,E-mail:guoqi20232023@163.com。
[收稿日期] 2024-07-13 [修回日期] 2024-10-20 网络出版时间:2024-11-07 10:43:47

decreased the proportion of Caspase-1^{+}PI^{+} SKOV3 cells, with statistically significant differences ($P<0.01$). **Conclusion**: Guizhi Fuling capsule exerts its therapeutic effect on ovarian cancer by inhibiting the activation of the Caspase-4/GSDME signaling pathway, reducing pyroptosis levels, and inducing G_0/G_1 cell cycle arrest.

[**Key words**] Guizhi Fuling capsule; Caspase-4/GSDME Pathway; Pyroptosis; Cell cycle; Ovarian cancer

卵巢癌(ovarian cancer,OC)作为女性生殖系统中常见的恶性肿瘤之一,流行病学显示其发病率仅次于宫颈癌与子宫内膜癌[1]。尽管检测手段取得了重大的进展,但OC的早期表现隐匿,大多数患者在确诊时已经处于晚期,根治性手术难以进行,导致OC的复发率与死亡率位居妇科肿瘤之首[2]。顺铂是目前临床治疗OC最常用的药物,通过诱导DNA不稳定发挥治疗效果,但是由于耐药性的发展导致其临床疗效不佳[3]。因此,迫切需要在临床上探索有效的治疗方案。

随着中医学的发展与革新,中药在抗OC的研究领域中受到广泛关注[4]。凭借其多成分、多靶点及多途径的优势,中药在抑制肿瘤细胞增殖和侵袭、改善化疗副作用及耐药方面,展现了不可或缺的作用。桂枝茯苓丸为中医经典方剂,已被广泛运用于卵巢癌、宫颈癌、卵巢囊肿、子宫腺肌病和多囊卵巢综合征等妇科疾病的治疗,具有活血化瘀、消癥化积的功效[5-9]。细胞周期调控在抑制肿瘤细胞失控的增殖中扮演着至关重要的角色,已有研究证实桂枝茯苓丸可诱导OC细胞G1期阻滞,从而抑制DNA的合成与复制,达到抑制肿瘤细胞增殖的作用[10,11]。因此,本研究通过观察桂枝茯苓方对Caspase-4/GSDME通路介导的细胞焦亡的影响,从而明确其调控细胞周期治疗卵巢癌的分子机制。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　细胞与动物　本实验已通过黑龙江省中医医院医学伦理委员会伦理审查,同意开展。伦理批件号:伦审药物第(2023-038-01)号。人卵巢癌细胞株(SKOV3,编号:TCHu185)购自上海细胞库。实验过程中将SKOV3细胞置于含有100 μg/mL链霉素、100 U/mL青霉素及10%胎牛血清(fetal bovine serum,FBS)的McCOY's 5A培养基中进行培养。培养环境:37 ℃,5%CO_2和饱和湿度。当细胞处于对数生长期时,进行后续细胞实验。清洁级Sprague Dawley大鼠(体质量:180～220g)购于赛业(固安)生物科技有限公司,生产许可证号:SCXK(冀)2021-003。动物饲养环境:温度:21～25 ℃,相对湿度:50%～60%,12 h循环光照。

1.1.2　药物与试剂　桂枝茯苓胶囊购自江苏康缘药业股份有限公司(规格为0.31 g×100粒,国药准字号:Z10950005)。Caspase-4抑制剂Z-LEVD-FMK购于美国MedChemExpress公司(货号:HY-128707)。McCOY's 5A培养基和标准FBS购于上海欧玛仕生物科技有限公司(货号:OMDCM-040和OMD-72503)。CCK8试剂盒购于上海碧云天生物科技有限公司(货号:C0038)。细胞培养用青霉素和链霉素购于上海翌圣生物科技股份有限公司(货号:60162ES76)。戊巴比妥钠盐购于美国Sigma-Aldrich公司(货号:P3761)。CDK4、CDK6、CyclinD1、GAPDH和HRP螯合的羊抗兔IgG抗体购于武汉ProteinTech公司(货号:11026-1-AP、14052-1-AP、60186-1-Ig、60004-1-Ig和SA00001-2)。Rb、p-Rb、Caspas-4和GSDME购于美国CST公司(货号:#9313、#8516、#42264和#19453)。L-乳酸脱氢酶(L-lacate dehydrogenase,L-LDH)活性检测试剂盒购自于索莱宝科技有限公司(货号:BC0685)。细胞周期检测试剂盒购自于伊莱瑞特生物科技股份有限公司(货号:E-CK-A352)。FAM-FLICA®Poly Caspase检测试剂盒购于艾美捷科技有限公司(货号:ICT-92)。

1.2　方法

1.2.1　含药血清制备　40只SD大鼠在适应性1周饲养后根据体质量随机分为空白组($n=10$)、桂枝茯苓低剂量组($n=10$)、桂枝茯苓中剂量组($n=10$)及桂枝茯苓高剂量组($n=10$)。桂枝茯苓中剂量组参照人与动物等效剂量换算公式给予74.16 mg/kg桂枝茯苓胶囊水溶液进行灌胃,桂枝茯苓低剂量和桂枝茯苓高剂量祖分别给与37.08 mg/kg和148.32 mg/kg桂枝茯苓胶囊水溶液进行灌胃,空白组大鼠给予等体积的生理盐水灌胃,每日1次,每次1 mL。末次灌胃后1 h,各组大鼠通过腹腔注射3%戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉采集血液。4 ℃离心(700×g,15 min),收集血清,0.22 μm微孔膜过滤除菌,56 ℃水浴灭活(30 min),－20 ℃储存备用。

1.2.2　分组与药物干预　SKOV3随机分为空白组、桂枝茯苓低剂量组、桂枝茯苓中剂量组、桂枝茯苓高剂量组和抑制剂组,每组设置3个复孔。药物干预如下:(1)空白组,900 μL培养基＋100 μL空白血清;(2)桂枝茯苓低剂量组,900 μL培养基＋100 μL桂枝茯苓低剂量含药血清;(3)桂枝茯苓中剂量组,900 μL培养基＋100 μL桂枝茯苓中剂量含药血

清;(4)桂枝茯苓高剂量组,900 μL培养基+100 μL桂枝茯苓高剂量含药血清;(5)抑制剂组,900μL培养基+100 μL空白血清+ 20 nmol/L的Z-LEVD-FMK。

1.2.3 细胞活性检测 SKOV3以1×10⁴个细胞/孔接种于96孔板中,培养24 h,分别给予相应的药物进行干预。随后每孔加入CCK8试剂10 μL后于室温下继续孵育1.5 h。采用酶标仪分别于24、48和72 h检测各组细胞450 nm处吸光度值。

1.2.4 ELISA法检测 SKOV3以1×10⁴个细胞/孔接种于96孔板中,培养24 h,分别给予相应的药物进行干预。24 h收集各组细胞,4℃离心(400×*g*,5 min),收集上清,于酶标仪490 nm处检测各样品吸光度值。LDH释放实验步骤严格参照试剂盒说明。

1.2.5 流式细胞检测 SKOV3以1×10⁵个细胞/孔接种于6孔板中,培养24 h,分别给予相应的药物进行干预。收集细胞,用预冷的PBS洗涤后重悬,加入预冷的70%乙醇固定2 h,调整细胞密度为1×10⁶/mL,分别加入10 μL RNase A和25 μL PI室温下孵育30 min。此外,加入FAM-FLICA耦合的Caspase-1重悬细胞,加入25 μL PI室温下继续孵育1 h,上流式细胞仪检测细胞周期和细胞焦亡的水平。

1.2.6 Western blot检测 收集各组SKOV3细胞,加入RIPA缓冲液于冰上裂解并提取蛋白,BCA试剂盒测定蛋白浓度。将10 μg蛋白质样品加载到SDS-PAGE凝胶中进行电泳。于冰上将蛋白转移至PVDF膜,室温下5%脱脂牛奶封闭1 h。加入兔抗CDK4、CDK6、CyclinD1、p-Rb、Caspas-4、GSDME和GAPDH一抗(经5%脱脂牛奶按适当比例稀释)于4℃环境下进行抗体孵育。收集孵育一抗后的PVDF膜置于TBST中摇动5 min,重复4次以洗膜。随后加入经5%脱脂牛奶按适当比例稀释HRP标记的二抗室温下进行抗体孵育。收集孵育二抗后的PVDF膜置于TBST中摇动5 min,重复6次以洗膜。滤干水分后均匀的洒上超敏ECL发光液后静置5 min后转入暗盒中进行曝光。用凝胶成像系统拍照后采用Image J软件分析目标条带的光密度值,其中以GAPDH作为内参蛋白。

1.3 统计学处理 在SPSS 27.0软件中进行统计分析时,数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)的形式呈现。对于多组间的差异性分析,采用单因素方差分析(ANOVA)。若方差齐性成立,则通过最小显著性差异(LSD)法进行组间比较;若方差不齐,则使用Dunnett T3方法进行两组比较。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 桂枝茯苓胶囊对SKOV3细胞活性的影响

与空白组相比,桂枝茯苓低剂量组、桂枝茯苓中剂量组、桂枝茯苓高剂量组和抑制剂组24、48和72 h细胞活性均显著的减低,差异比较均具有统计学意义($P<0.01$),见表1。

表1 各组SKOV3细胞活性的比较(n=3)

Tab 1 Comparison of SKOV3 cell viability among different groups (n=3)

组别	OD值		
	24 h	48 h	72 h
空白组	0.81±0.01	1.49±0.05	2.16±0.08
桂枝茯苓低剂量组	0.65±0.06##	1.26±0.06##	1.83±0.10##
桂枝茯苓中剂量组	0.57±0.07##	1.14±0.05##	1.59±0.17##
桂枝茯苓高剂量组	0.52±0.08##	0.95±0.02##	1.30±0.03##
抑制剂组	0.55±0.02##	1.06±0.08##	1.35±0.10##
F	13.061	43.889	32.553
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与空白组比较,##$P<0.01$。

2.2 桂枝茯苓胶囊对SKOV3细胞L-LDH活性的影响

与空白组相比,桂枝茯苓低剂量组、桂枝茯苓中剂量组、桂枝茯苓高剂量组和抑制剂组SKOV3细胞上清中L-LDH的活性均显著的降低,比较的差异均具有统计学意义($P<0.01$),见表2。

2.3 桂枝茯苓胶囊对SKOV3细胞周期分布的影响

与空白组相比,桂枝茯苓低剂量组、桂枝茯苓中剂量组、桂枝茯苓高剂量组和抑制剂组SKOV3细胞G_0/G_1期比例显著增加,S期比例显著降低,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。而桂枝茯苓低剂

表2　各组SKOV3细胞L-LDH活性的比较(n=3)

Tab 2　Comparison of L-LDH activity of SKOV3 cells among different groups(n=3)

组别	L-LDH活性(U/mL)
空白组	59.67±4.34
桂枝茯苓低剂量组	48.49±4.22$^{\#\#}$
桂枝茯苓中剂量组	44.32±3.71$^{\#\#}$
桂枝茯苓高剂量组	37.66±2.89$^{\#\#}$
抑制剂组	39.16±2.57$^{\#\#}$
F	17.916
P	<0.001

注：与空白组比较，$^{\#\#}P$<0.01。

量组、桂枝茯苓中剂量组和抑制剂组细胞G_2/M期比例无明显改变，差异均无统计学意义(P>0.05)，桂枝茯苓高剂量组G2/M期比例降低，组间比较的差异均具有统计学意义(P<0.05)，见表3及图1。

2.4　桂枝茯苓胶囊对SKOV3细胞周期调控蛋白的影响

与空白组相比，桂枝茯苓低剂量组、桂枝茯苓中剂量组、桂枝茯苓高剂量组和抑制剂组SKOV3细胞中CDK4、CDK6、CyclinD1的表达和p-Rb/Rb的比值均显著的降低，比较的差异均具有统计学意义(P<0.01)，见表4及图2。

表3　各组SKOV3细胞周期分布的比较(n=3)

Tab 3　Comparison of cell cycle distribution of SKOV3 cells among different groups (n=3)

组别	细胞周期(%)		
	G_0/G_1	S	G_2/M
空白组	45.79±1.84	34.39±1.19	19.36±1.97
桂枝茯苓低剂量组	52.40±2.29$^{\#\#}$	28.96±2.32$^{\#\#}$	18.63±2.13
桂枝茯苓中剂量组	55.49±1.14$^{\#\#}$	26.91±1.21$^{\#\#}$	17.60±0.59
桂枝茯苓高剂量组	59.89±1.69$^{\#\#}$	24.46±0.58$^{\#\#}$	15.65±2.04$^{\#}$
抑制剂组	58.76±1.16$^{\#\#}$	24.93±0.66$^{\#\#}$	16.31±1.40
F	34.053	26.909	2.418
P	<0.001	<0.001	0.117

注：与空白组比较，$^{\#}P$<0.05，$^{\#\#}P$<0.01。

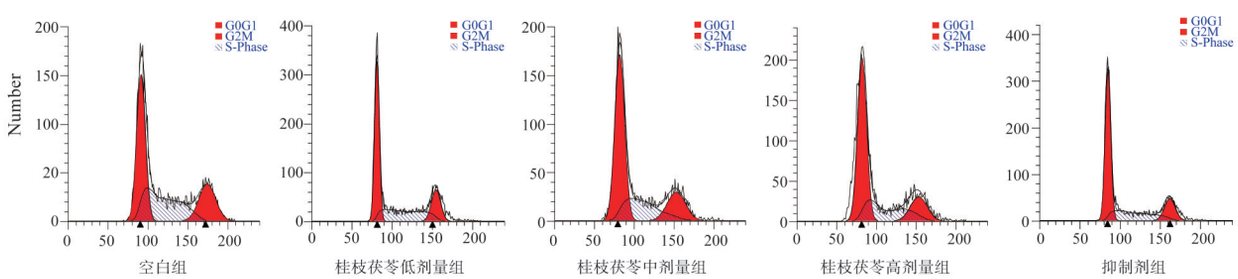


图1　流式细胞术检测各组SKOV3细胞周期分布

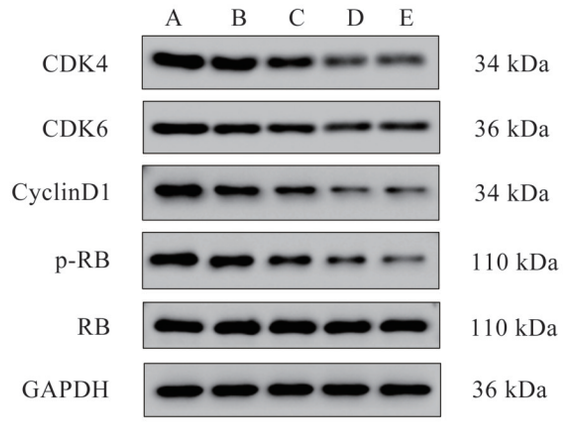
Fig 1　Detection of cell cycle distribution of SKOV3 cells among different groups by flow cytometry

表4　各组SKOV3细胞周期调控蛋白的比较(n=3)

Tab 4　Comparison of cell cycle regulatory proteins in SKOV3 cells among different groups (n=3)

组别	CDK4/GAPDH	CDK6/GAPDH	CyclinD1/GAPDH	p-Rb/Rb
空白组	1.18±0.11	0.95±0.08	1.00±0.12	1.16±0.13
桂枝茯苓低剂量组	0.89±0.08$^{\#\#}$	0.55±0.10$^{\#\#}$	0.61±0.05$^{\#\#}$	0.83±0.05$^{\#\#}$
桂枝茯苓中剂量组	0.63±0.09$^{\#\#}$	0.45±0.03$^{\#\#}$	0.44±0.08$^{\#\#}$	0.46±0.03$^{\#\#}$
桂枝茯苓高剂量组	0.35±0.03$^{\#\#}$	0.34±0.03$^{\#\#}$	0.20±0.04$^{\#\#}$	0.22±0.03$^{\#\#}$
抑制剂组	0.38±0.02$^{\#\#}$	0.35±0.03$^{\#\#}$	0.22±0.04$^{\#\#}$	0.22±0.06$^{\#\#}$
F	65.316	50.675	65.337	106.178
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与空白组比较，$^{\#\#}P$<0.01。



A:空白组;B:桂枝茯苓低剂量组;C:桂枝茯苓中剂量组;D:桂枝茯苓高剂量组;E:抑制剂组

图2 Western blot检测各组SKOV3细胞中细胞周期蛋白的表达

Fig 2 Cell cycle protein expression in SKOV3 cells among different groups by Western blot

2.5 桂枝茯苓胶囊对SKOV3细胞焦亡水平的影响

与空白组相比,桂枝茯苓低剂量组、桂枝茯苓中剂量组、桂枝茯苓高剂量组和抑制剂组Caspase-1^+PI^+SKOV3细胞的比例均显著的降低,组间比较差异均具有统计学意义($P<0.01$),见表5及图3。

表5 各组SKOV3细胞焦亡水平的比较(n=3)

Tab 5 Comparison of pyroptosis levels in SKOV3 cells among different groups (n=3)

组别	Caspase-1^+PI^+(%)
空白组	17.82±0.54
桂枝茯苓低剂量组	15.14±0.29##
桂枝茯苓中剂量组	12.80±0.99##
桂枝茯苓高剂量组	9.69±0.51##
抑制剂组	10.00±0.54##
F	93.675
P	<0.001

注:与空白组比较,##$P<0.01$。

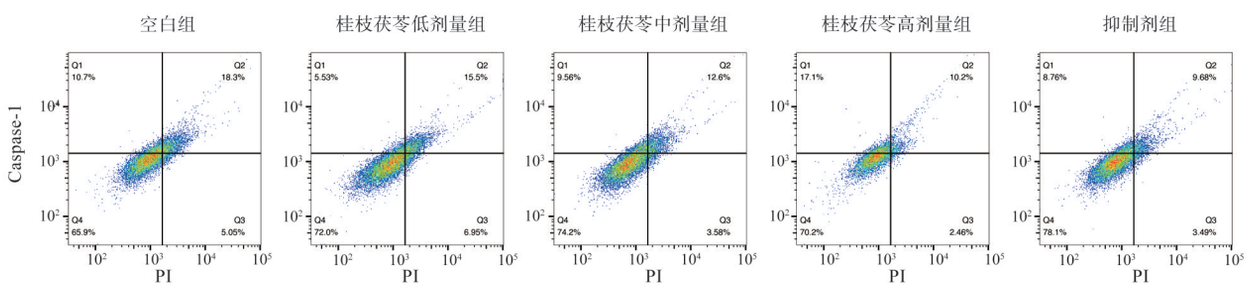


图3 流式细胞术检测各组SKOV3细胞焦亡水平

Fig 3 Detection of pyroptosis levels in SKOV3 cells among different groups by flow cytometry

2.6 桂枝茯苓胶囊对SKOV3细胞Caspase-4和GSDME蛋白的影响

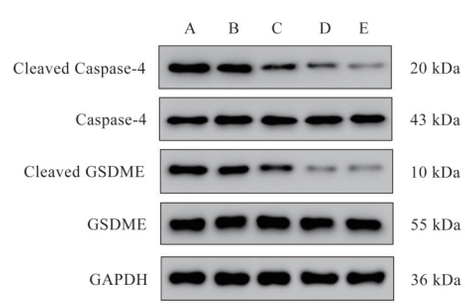
与空白组相比,桂枝茯苓低剂量组、桂枝茯苓中剂量组、桂枝茯苓高剂量组和抑制剂组SKOV3细胞中cleaved Caspase-4/Caspase-4和cleaved GSDME/GSDME的比值均显著的降低,比较的差异均具有统计学意义($P<0.01$),见表6及图4。

表6 各组SKOV3细胞Caspase-4和GSDME蛋白表达的比较(n=3)

Tab 6 Comparison of Caspase-4 and GSDME protein expressions in SKOV3 cells among different groups (n=3)

组别	cleaved Caspase-4/Caspase-4	cleaved GSDME/GSDME
空白组	0.94±0.05	0.85±0.06
桂枝茯苓低剂量组	0.77±0.04##	0.71±0.06##
桂枝茯苓中剂量组	0.40±0.03##	0.37±0.01##
桂枝茯苓高剂量组	0.18±0.01##	0.14±0.05##
抑制剂组	0.18±0.03##	0.16±0.01##
F	293.018	142.946
P	<0.001	<0.001

注:与空白组比较,##$P<0.01$。



A:空白组;B:桂枝茯苓低剂量组;C:桂枝茯苓中剂量组;D:桂枝茯苓高剂量组;E:抑制剂组

图4 Western blot检测各组SKOV3细胞中Caspase-4和GSDME蛋白的表达

Fig 4 Caspase-4 and GSDME proteins expression in SKOV3 cells among different groups by Western blot

3 讨论

持续的细胞增殖和逃避生长抑制是所有癌细胞的两个最典型特征，并且均与细胞周期的进程调节密切相关[12]。细胞周期进程是一个严格控制的过程，涉及癌症进展的每个阶段。因此靶向细胞周期调控成为癌症生物疗法的重要途径[13]。G1期至S期的转变失调在癌症中起着重要的作用，尤其是卵巢癌的发生与发展。CDK4和CDK6属于细胞周期蛋白依赖性激酶家族，在细胞周期调控中发挥重要作用[14]。在细胞周期静止状态下，CDK4/6表现为非活性状态。而CDK4/6的活化标志着细胞周期从G1期进入S期。RB蛋白在细胞周期调控中扮演着关键角色，其通过与转录因子E2F1结合来抑制其活性，后者可促进与DNA复制和细胞周期进程相关的基因表达[15]。一旦CDK4/6与细胞周期蛋白CyclinD1结合形成CDK4/6-Cyclin D复合体，通过磷酸化Rb蛋白和释放转录因子E2F1，促进细胞进入S期并开始DNA复制[16]。本研究结果显示，桂枝茯苓胶囊能够显著下调SKOV3细胞中CDK4、CDK6、CyclinD1的表达和p-Rb/Rb的比值，从而增加G0G1期比例和降低S期比例。

细胞焦亡是一种由炎症小体触发并由GSDME蛋白执的致炎性程序性细胞死亡，已被证实与卵巢癌的发展与预后密切相关[17]。Caspase-4半胱氨酸蛋白酶家族一员，通过分子内或分子间作用被剪切成p20大亚基和p10小亚基组成的异源二聚体从而被激活，尤其是发生在p10亚基N段的保守剪切对Caspase-4的活化至关重要[18]。激活的Caspase-4特异性识别GSDME蛋白并切割GSDME，释放出具有膜打孔活性的N端结构域。GSDME的N端结构域通过结合膜磷脂并在细胞膜上打孔，从而导致细胞渗透压的变化，激发细胞焦亡[19]。焦亡已被证实参与肿瘤细胞周期的调控[20]。本研究结果显示桂枝茯苓胶囊能够显著下调Caspase-4 p10亚基和cleaved GSDME蛋白的表达，并且抑制细胞焦亡的水平。

卵巢癌属于中医“癥积”、“石瘕”、“肠覃”等的范畴，其中“浊、瘀、毒”是本边发生与发展的重要因素。三焦气化失司，浊邪内生，阻遏血脉成瘀。浊蕴日久而化为毒邪，与瘀相结合，胶着难化，遂成癌浊。癌浊其性乖戾，易于流窜；其性伏藏，起病隐匿。桂枝茯苓丸为治疗妇科癥病的经典名方，首载于《金匮要略·妇人妊娠病脉证并治》，“妇人宿有癥病……所以血不止者……当下其癥，桂枝茯苓丸主之。”方中桂枝性温，温通经脉而化瘀滞，为君药。桃仁，性平，活血化瘀，为化瘀消癥之要药；丹皮性微寒，行血散瘀而清瘀热；白芍性微寒，养血和血，以上三药共为臣药。佐以利水渗湿之茯苓，健脾养心。全方共奏活血化瘀，缓消癥块。研究结果显示，白芍和丹皮的主要活性成分芍药苷能够显著抑制卵巢癌细胞的增殖活性和迁移水平，其作用机制主要与通过促进Caspase-3蛋白和抑制NF-κB蛋白的表达有关[21]。本研究结果显示，桂枝茯苓胶囊能够显著抑制卵巢癌的细胞活性，且成浓度依赖的形式，进一步证实其抗卵巢癌的作用。

综上所述，桂枝茯苓胶囊通过抑制细胞焦亡介导的细胞周期调控达到治疗卵巢癌的作用，其机制主要与抑制Caspase-4/GSDME信号通路的激活有关。

作者贡献度说明：

本研究由吴心力设计，蔡萧君指导，实验由赵磊完成，郭琦负责指标检测，陈宇菲负责统计分析。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 Vorderbruggen M, Velázquez-Martínez CA, Natarajan A, et al. PROTACs in ovarian cancer: Current advancements and future perspectives[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(10): 5067.

2 Wang Y, Wang Z, Zhang Z, et al. Burden of ovarian cancer in China from 1990 to 2030: A systematic analysis and comparison with the global level[J]. Front Public Health, 2023, 11: 1136596.

3 Konstantinopoulos PA, Matulonis UA. Clinical and translational advances in ovarian cancer therapy[J]. Nat Cancer, 2023, 4(9): 1239-1257.

4 Wang Y, Xie L, Liu F, et al. Research progress on traditional Chinese medicine-induced apoptosis signaling pathways in ovarian cancer cells[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 2): 117299.

5 周丽萍，雷蕾，楚国庆，等. 桂枝茯苓丸联合顺铂对人卵巢癌SKOV-3细胞增殖与凋亡的影响[J]. 宁夏医学杂志，2021，43(1)：20-23.
Zhou L, Lei L, Chu G, et al. Effects of cinnamon twig and poria pill combined with cisplatin on proliferation and apoptosis of SKOV-3 cells in human ovarian cancer[J]. Ningxia Med J, 2021, 43(1): 20-23.

6 杨广，罗利平. 桂枝茯苓丸对宫颈癌细胞生物学行为的

影响及作用机制[J].四川中医，2021，39(4)：54-57.
Yang G，Luo L. Effect and mechanism exploration of Guizhi Fuling pills for biological behavior of cervical cancer cells[J]. J Sichuan Tradit Chin Med，2021，39(4)：54-57.

7 徐秋云.妇炎宁汤灌肠联合桂枝茯苓丸内服治疗卵巢囊肿临床观察[J].实用中医药杂志，2024，40(3)：442-444.
Xu Q. Clinical observation of the combination of Fu Yan Ning decoction enema and Guizhi Fuling decoction oral administration in the treatment of ovarian cysts[J]. J Pract Tradit Chin Med，2024，40(3)：442-444.

8 王碧媛，殷岫绮.桂枝茯苓丸联合刺络放血治疗气滞血瘀型子宫腺肌病临床疗效研究[J].山西医药杂志，2022，51(21)：2403-2406.
Wang B，Yin X. Clinical effect of Guizhi Fuling pill combined with pricking and bloodletting in the treatment of qi-stagnation and blood-stasis type adenomyosis and its influence on VAS score[J]. Shanxi Med J，2022，51(21)：2403-2406.

9 闫昶存，杨帆.桂枝茯苓丸联合克罗米芬及二甲双胍治疗多囊卵巢综合征合并胰岛素抵抗疗效观察[J].实用中医药杂志，2024，40(5)：914-917.
Yan C，Yang F. Observation of the efficacy of Guizhi Fuling decoction combined with clomiphene and metformin in the treatment of polycystic ovary syndrome with insulin resistance [J]. J Pract Tradit Chin Med，2024，40(5)：914-917.

10 Ma Q，Chen F，Liu Y，et al. Integrated transcriptomic and proteomic analysis reveals Guizhi Fuling wan inhibiting STAT3-EMT in ovarian cancer progression [J]. Biomed Pharmacother，2024，170：116016.

11 Han L，Cao X，Chen Z，et al. Overcoming cisplatin resistance by targeting the MTDH-PTEN interaction in ovarian cancer with sera derived from rats exposed to Guizhi Fuling Wan extract[J]. BMC Complement Med Ther，2020，20:57.

12 Jamasbi E，Hamelian M，Hossain MA，et al. The cell cycle，cancer development and therapy[J]. Mol Biol Rep，2022，49(11)：10875-10883.

13 Suski JM，Braun M，Strmiska V，et al. Targeting cell-cycle machinery in cancer[J]. Cancer Cell，2021，39(6)：759-778.

14 Zhang QF，Li J，Jiang K，et al. CDK4/6 inhibition promotes immune infiltration in ovarian cancer and synergizes with PD-1 blockade in a B cell-dependent manner[J]. Theranostics，2020，10(23)：10619-10633.

15 Mandigo AC，Yuan W，Xu K，et al. RB/E2F1 as a master regulator of cancer cell metabolism in advanced disease[J]. Cancer Discov，2021，11(9)：2334-2353.

16 Chang Z，Kuang H，Zhou X，et al. Temporal changes in cyclinD-CDK4/CDK6 and cyclinE-CDK2 pathways：Implications for the mechanism of deficient decidualization in an immune-based mouse model of unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. Mol Med，2022，28：100.

17 Wang A，Wang Y，Du C，et al. Pyroptosis and the tumor immune microenvironment：A new battlefield in ovarian cancer treatment[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer，2024，1879(2)：189058.

18 Devant P，Dong Y，Mintseris J，et al. Structural insights into cytokine cleavage by inflammatory Caspase-4[J]. Nature，2023，624(7991)：451-459.

19 Wu Y，Pan B，Zhang Z，et al. Caspase-4/11-mediated pulmonary artery endothelial cell pyroptosis contributes to pulmonary arterial hypertension[J]. Hypertension，2022，79(3)：536-548.

20 Ren L，Li W，Zheng X，et al. Benzimidazoles induce concurrent apoptosis and pyroptosis of human glioblastoma cells *via* arresting cell cycle[J]. Acta Pharmacol Sin，2022，43(1)：194-208.

21 马文文，牟一凡，刘芳媛，等.基于信号通路探讨桂枝茯苓丸治疗卵巢癌的研究进展[J].中华中医药学刊，2024，42(4)：189-193.
Ma W，Mou Y，Liu F，et al. Guizhi Fuling pill treating ovarian cancer *via* signaling pathways：A review[J]. Chin Arch Tradit Chin Med，2024，42(4)：189-193.

[**本文编辑**] 雷 燕 宋睿璞 陈思润