

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.24.012

八珍汤治疗胃癌的网络药理学作用机制*

赵培西¹, 唐仕浩², 赵 华¹, 赵 斌¹, 张 艳¹, 杨铁林², 郭 燕^{2△}, 张一力¹

(1. 陕西省肿瘤医院, 陕西 西安 710061; 2. 西安交通大学生命科学与技术学院· 生物医学信息工程教育部重点实验室, 陕西 西安 710049)

摘要:目的 探讨八珍汤治疗胃癌的网络药理学作用机制。方法 利用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)筛选八珍汤的生物活性成分, 预测其靶点, 构建药效分子-靶点网络及蛋白互作(PPI)网络, 并进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路、基因本体论(GO)富集分析。结果 从TCMSP中获得八珍汤组方中药的活性成分150个, 药效分子靶点基因238个, 对应关系2 035个; 238个药效分子靶点基因中有230个与4 968个疾病靶点间有相互作用, 这种作用关系达22 795个; PPI网络中排名靠前的均在癌症通路中被富集。结论 该研究初步揭示了八珍汤在胃癌治疗中的有效成分、潜在靶点及可能的作用机制。

关键词: 八珍汤; 胃癌; 网络药理学; 作用机制

中图分类号: R932; R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)24-0039-05

Mechanism of Bazhen Decoction in the Treatment of Gastric Cancer Based on Network Pharmacology

ZHAO Peixi¹, TANG Shihao², ZHAO Hua¹, ZHAO Bin¹, ZHANG Yan¹, YANG Tielin², GUO Yan², ZHANG Yili¹

(1. Shaanxi Cancer Hospital, Xi'an, Shaanxi, China 710061; 2. School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University · Key Laboratory of Biomedical Information Engineering, Ministry of Education, Xi'an, Shaanxi, China 710049)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of Bazhen Decoction in the treatment of gastric cancer based on network pharmacology.

Methods The active ingredients and targets of Bazhen Decoction were screened and predicted through the Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). The pharmacodynamic molecule-target network and protein-protein interaction (PPI) network were constructed, and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis and Gene Ontology (GO) enrichment analysis were conducted. **Results** A total of 150 active ingredients in Bazhen Decoction, 238 pharmacodynamic molecular target genes, and 2 035 corresponding interaction relationships were obtained from the TCMSP. Among the 238 pharmacodynamic molecular target genes, 230 target genes interacted with 4 968 disease targets, including 22 795 interaction relationships. The top proteins ranked in PPI network were enriched in cancer pathways. **Conclusion** This study preliminarily reveals the active ingredients, potential targets and potential mechanism of Bazhen Decoction in the treatment of gastric cancer.

Key words: Bazhen Decoction; gastric cancer; network pharmacology; mechanism

胃癌是全球第五大癌症, 每年超100万患者确诊^[1]。东亚是胃癌患者集中的地区之一^[2]。胃癌的治疗以手术为主, 术后或不适合手术的患者也可采用药物治疗, 对胃癌有效的化学治疗(简称化疗)药物包括氟嘧啶类、铂类、紫杉烷类和伊立替康^[2]。但西药常伴各种药品不良反应, 如卡培他滨会导致手足综合征^[3], 奥沙利铂与精神类疾病和腹泻相关^[4]。中药具有抑制癌细胞增殖或诱导其凋亡的作用^[5-7], 且药性温和, 药品不良反应较少, 逐渐受到大众重视。八珍汤别名八珍散, 载于多本医方著作, 其由人参、白术、白茯苓、当归、川芎、白芍、熟地黄、甘草组方, 对胃癌有一定疗效^[8-10], 但因该方成分多样、作用靶点繁复, 具体机制仍未明确。网络药理学可通过构建“药物-靶点-疾病”网络, 系统、完整地揭示中药治疗疾病的作用机制。本研究中探讨了八珍汤治疗胃癌的网络药理学作用机制, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 活性成分筛选

在中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)上, 分别以“人参”“白术”“茯苓”“当归”“川芎”“白芍”“熟地黄”“甘草”为关键词进行搜索, 筛选条件为药物口服生物利用度(OB)≥30%, 药物相似性(DL)≥0.18。将得到的靶点在Uniprot网站(<https://www.uniprot.org/>)中转换为对应ID, 同时排除部分指代不明或非“Homo sapiens”的靶点。

1.2 作用靶点预测及生物活性成分-靶点网络构建

预测筛选后的黄芪主要生物活性成分的作用靶点, 根据TCMSP提供的靶点, 利用网络绘图软件Cytoscape 3.7.2构建主要生物活性成分-靶点的作用网络。

1.3 蛋白互作(PPI)网络构建与分析

构建药物直接靶点与其他蛋白间的PPI网络, 通过

*基金项目: 陕西省重点研发计划项目[2021SF-374]; 陕西省肿瘤医院院内国家自然科学基金基金孵育项目[SC211711]。

第一作者: 赵培西, 男, 在职博士, 副主任药师, 研究方向为肿瘤药理学, (电话)029-85276103。

△通信作者: 郭燕, 女, 博士, 教授, 研究方向为高通量数据挖掘, (电子信箱)guoyan253@xjtu.edu.cn。

String 数据库对药物靶点及疾病靶点进行 PPI 分析,筛选条件为互作分数大于 0.9。

1.4 目标基因富集分析

京都基因与基因组百科全书(KEGG)是系统分析基因功能、基因组信息的数据库,有助于研究者把基因及表达信息作为一个整体网络进行研究。通过 KEGG 富集分析得到相关的代谢通路。使用 metaspape 网站(<https://metaspape.org/>),Min Overlap 选择 3, P 值选择 0.01,MinEnrichment 选择 1.5,进行在线 KEGG 通路分析。

基因本体论(GO)分析中将基因功能分成生物过程(BP)、细胞组分(CC)、分子功能(MF)三部分。将上一步得到的所有靶点作为输入,使用 David6.8(<https://david.ncifcrf.gov/>)在线功能注释工具进行 GO 富集分析。

2 结果

2.1 活性成分检索

得复方八珍汤组方中各中药的主要成分 150 种,其中人参 22 种、白术 7 种、茯苓 15 种、当归 2 种、川芎

7 种、白芍 13 种、熟地黄 2 种、甘草 92 种。

2.2 活性成分-靶点网络构建

得到 8 种中药的对应作用靶点,与 2.1 项下筛选得到主要成分进行匹配,在 Uniprot 网站中对对应靶点进行检索,选择物种“Homo sapiens”,排除重复的和指代不明的靶点后,得到 238 个靶点,共计 2 035 个对应关系(图 1)。其中“共有”表示该成分在多种中药中均存在,当归和熟地无特有成分,故未单独标出。

2.3 PPI 分析

筛选互作分数大于 0.9 的 PPI pairs,238 个药效分子靶点基因中有 230 个与 4 968 个疾病靶点间有相互作用,这种作用关系达 22 795 个。其中,按 degree 值排序排名前 15 的蛋白为 TP53(590), MAPK1(532), CDC42 (504), MAPK3 (451), HSP90AA1 (409), AKT1 (404), JUN (387), CHRM2 (380), STAT3 (376), CXCL8 (370), RELA (365), EGFR (361), MAPK14 (336), CCNB1 (327), APOB (324)。

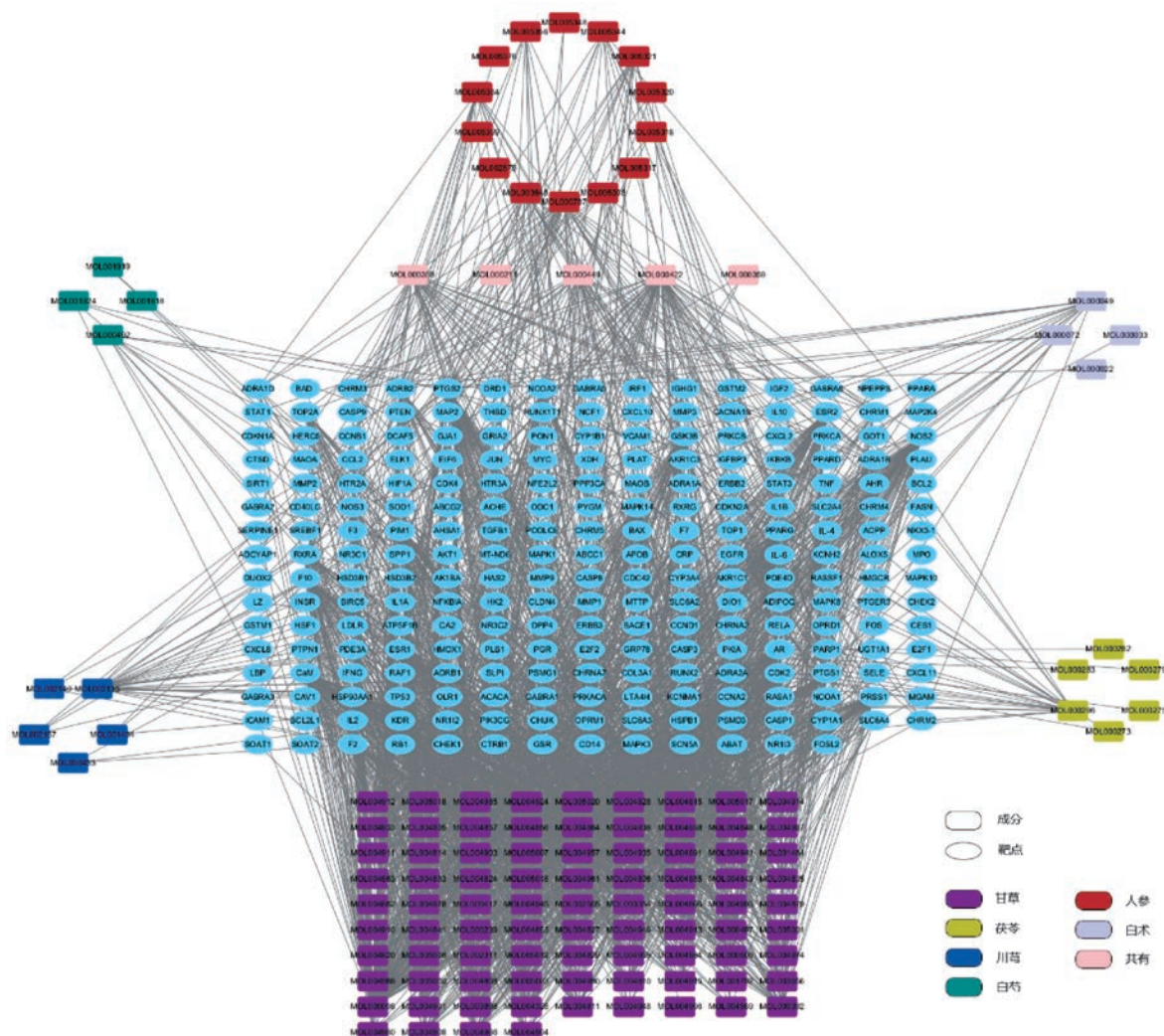


图1 活性成分-靶点网络示意图

Fig.1 Schematic diagram of active ingredient-target network

2.4 KEGG 通路富集分析

将 KEGG 分析到的通路按 P 值由小到大排列,选取前 20 位进行可视化,结果见图 2。八珍汤对应靶点与癌症通路富集结果显著性最强,同时与 MAPK 通路、cAMP 通路等细胞增殖分化和凋亡过程相关。以癌症通路为例,可观察到在 PPI 网络中排名靠前的均在该通路中被富集,如 TP53, MAPK1 和 MAPK3(图中 ERK), CDC42, HSP90AA1(图中 HSP)等,详见图 3。以错误发现率(FDR) < 0.05 为界筛选 FDR 最小的 10 条通路进行 GO 富集分析,结果见图 4。表明八珍汤作用靶点与癌症通路高度相关。

2.5 PPI 网络主要模块分析

利用 cytoscape 软件中 MCODE 插件对 2.3 项下得到的 PPI 网络进行模块分析,degree cutoff 选择 3,其他参数默认,最终得到 16 个主要模块,其中得分大于 5 的有模块 A(6.189 分,含 75 个蛋白)和模块 B(6.036 分,含 221 个蛋白)。

为进一步探究模块中蛋白的功能,进行 KEGG 通路分析,按显著性排序绘图,结果图 6。其中与总体 KEGG 分析结果相比,在肿瘤及细胞增殖周期相关的通路同样在这里得到了富集。

3 讨论

本研究中初步筛选出八珍汤活性成分 150 个,继而

挖掘出 238 个靶点基因及相互作用关系 2 035 个,表明中药复方作用机制具有多靶点、多途径的特点。PPI 分析所得 degree 前 15 名蛋白多与胃癌相关,以排名前 3

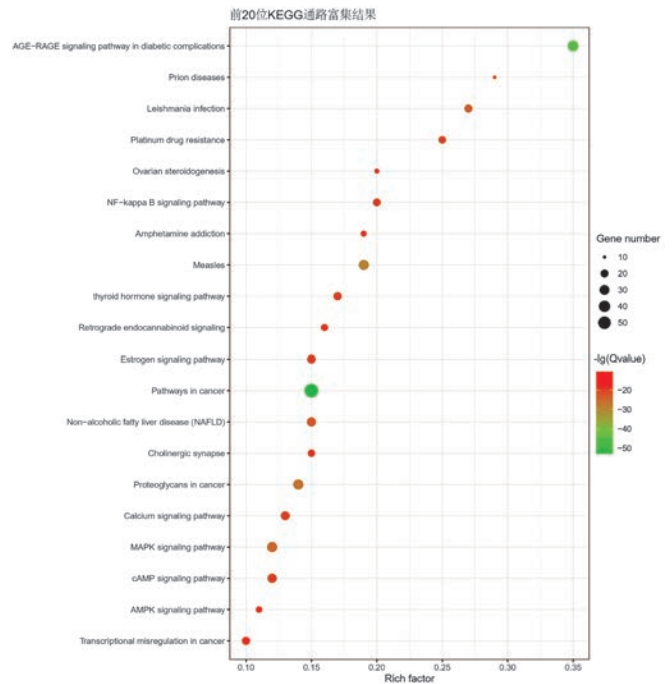


图 2 KEGG 通路分析结果

Fig. 2 Results of KEGG pathway analysis

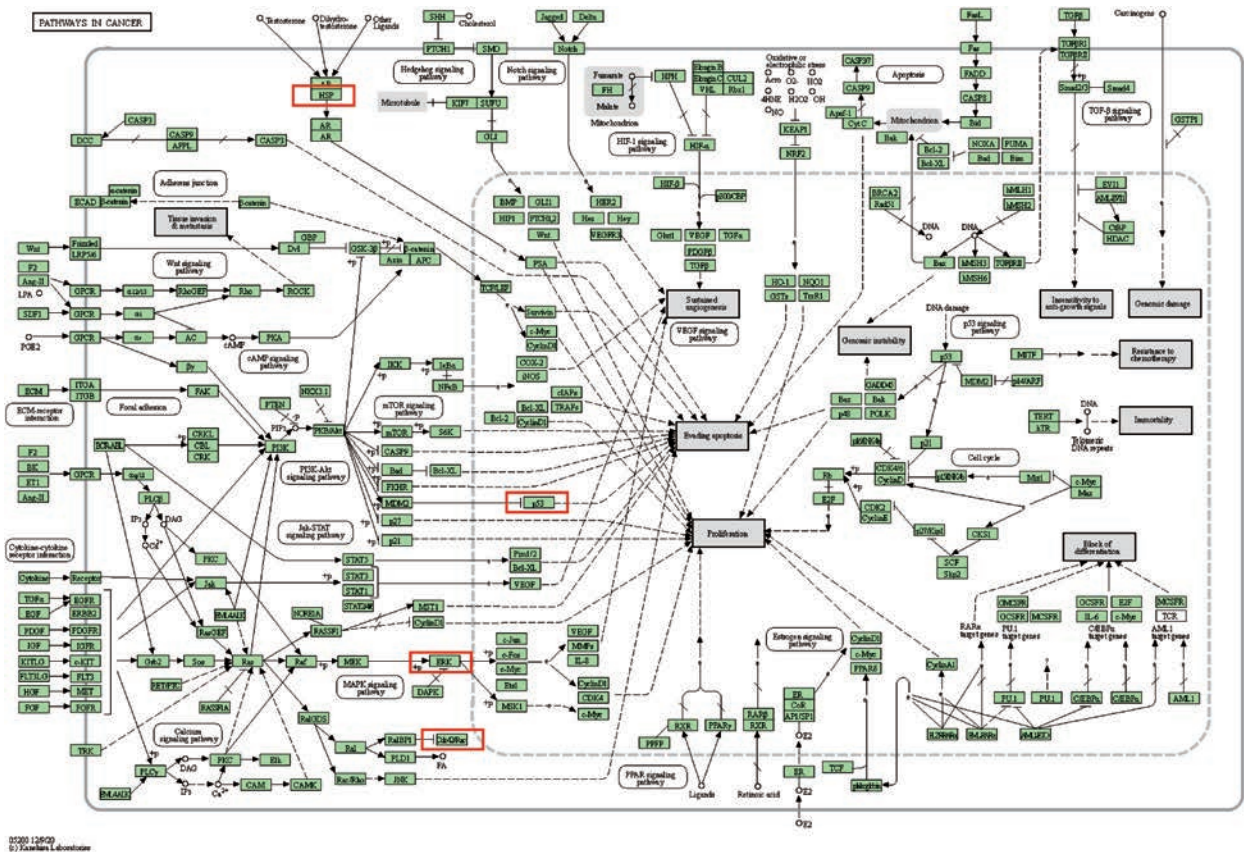


图 3 癌症通路示意图

Fig. 3 Schematic diagram of cancer pathways

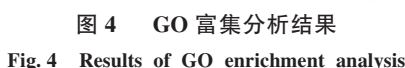


图 5 PPI 主要模块分析

A. Module A B. Module B

Fig. 5 Analysis of PPI main modules

KEGG 通路分析中也得到了类似结果,除与肿瘤形成和转录直接相关的通路外,细胞生长凋亡及信号传导的相关通路如 MAPK 通路、cAMP 通路^[15]、AMPK 通路^[16]也得到类似显著结果。这些通路均被证实在胃癌形成或治疗过程中的作用,证明了本研究与生物医学研究可相互印证。GO 富集分析中,细胞对药物等的反应在 BP 中排名靠前,说明这些蛋白主要参与细胞基础活动,同时对内源性刺激应答进行调控;MF 分析表明,这些靶点主要参与酶、蛋白、转录因子和药物结合过程;CC 分析显示,

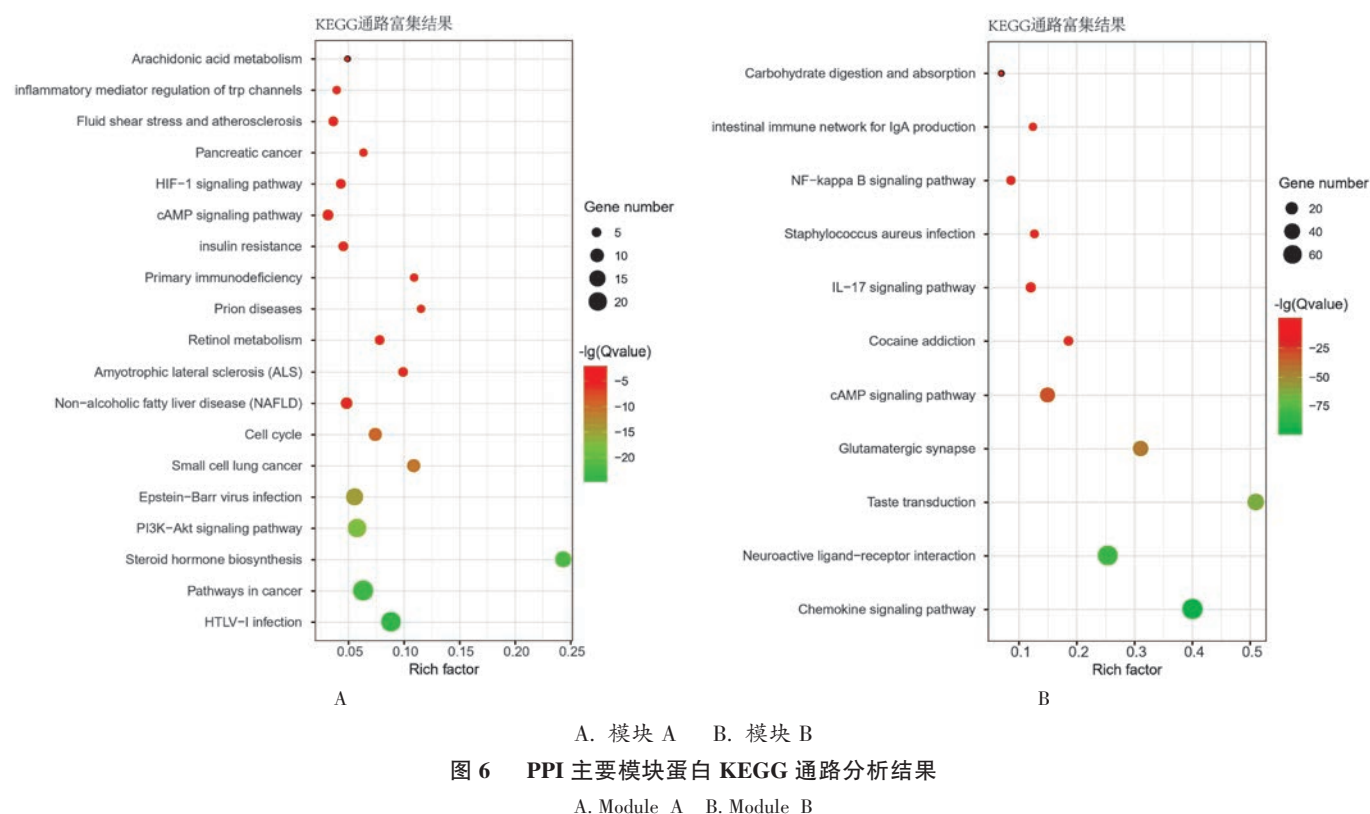


Fig. 6 Results of KEGG pathway analysis of PPI main module protein

它们与细胞间质和细胞质相关的通路有关。

综上所述,基于网络药理学和生物信息学分析能揭示八珍汤在抗胃癌过程中可能的机制,并找到关键靶蛋白,为后续研究提供重要的理论依据,也为药物作用机制的研究和药物研发提供了新思路和新方法。

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] SMYTH EC, NILSSON M, GRABSCH HI, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2020, 396(10251):635-648.
- [3] CUNNINGHAM D, STARLING N, RAO S, et al. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer[J]. The New England Journal of Medicine, 2008, 358(1):36-46.
- [4] YAMADA Y, HIGUCHI K, NISHIKAWA K, et al. Phase III study comparing oxaliplatin plus S-1 with cisplatin plus S-1 in chemotherapy-naïve patients with advanced gastric cancer[J]. Annals of Oncology, 2015, 26(1):141-148.
- [5] 鲍舒洁, 张丹, 张红, 等. 白芍总苷脂质体诱导胃癌 BGC-823 细胞凋亡的实验研究[J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(24):2109-2113.
- [6] 黄靓, 李国庆, 毛振江, 等. 人参多糖注射液对胃癌细胞 SGC-7901 凋亡的诱导作用及机制[J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(33):5114-5117.
- [7] 李平, 胡建燃, 铁军. 柴胡总皂苷通过 Akt/NF-κB 信

号通路抑制胃癌细胞 MGC80-3 的增殖和迁移[J]. 中国细胞生物学学报, 2018, 40(10):1727-1735.

- [8] 白璐, 苏锐, 权兴苗, 等. 八珍汤加减对胃癌新辅助化疗患者营养状况和免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(11):117-122.
- [9] 桑贤良. 八珍汤加减治疗对胃癌术后患者生存质量的影响[J]. 临床研究, 2020, 28(12):134-136.
- [10] 周芸娜, 吕星旺. 八珍汤联合化疗治疗晚期结肠癌疗效观察[J]. 世界中西医结合杂志, 2020, 15(8):1524-1527.
- [11] DONEHOWER LA, SOUSSI T, KORKUT A, et al. Integrated Analysis of TP53 Gene and Pathway Alterations in The Cancer Genome Atlas[J]. Cell Rep, 2019, 28(5):1370-1384.
- [12] LUO M, LIANG C. LncRNA LINC00483 promotes gastric cancer development through regulating MAPK1 expression by sponging miR-490-3p[J]. Biological Research, 2020, 53(1):14.
- [13] ZHU Z, YU Z, RONG Z, et al. The novel GINS4 axis promotes gastric cancer growth and progression by activating Rac1 and CDC42[J]. Theranostics, 2019, 9(26):8294-8311.
- [14] 彭洪, 李鑫, 李彦坤, 等. 甘草提取物(GL-1)对胃癌 SGC-7901 细胞增殖抑制及促凋亡作用[J]. 中国公共卫生, 2016, 32(7):931-934.
- [15] ABUDOUREYIMU A, MUHEMAITIBAKE A. Arsenic trioxide regulates gastric cancer cell apoptosis by mediating cAMP[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(3):612-617.
- [16] CAO YJ, LUO YC, ZOU J, et al. Autophagy and its role in gastric cancer[J]. Clin Chim Acta, 2019, 489:10-20.

(收稿日期:2021-08-27)