

基于网络药理学研究鸡血藤治疗胃癌的作用机制

季磊¹,单慧敏²,王银香¹,孙志勤¹,翟长云¹,王晋秋¹

(盐城市大丰人民医院/扬州大学医学院大丰临床学院肿瘤科¹,病理科²,
江苏 盐城 224005)

摘要:目的 借助网络药理学预测鸡血藤治疗胃癌的潜在作用机制。方法 通过 TCMSP 数据库获得鸡血藤的活性成分及对应靶点,同时利用 GeneCards、TTD 和 OMIM 等数据库收集胃癌靶点。采用韦恩图得到药物和疾病交集靶点,通过 STRING 数据库构建交集靶点蛋白相互作用网络(PPI)。运用 DAVID 在线工具对交集靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。结果 获得鸡血藤有效活性成分共 24 个,对应靶点 104 个,收集胃癌靶点共 1639 个,通过 Venn 图得到鸡血藤-胃癌交集靶点共 66 个。蛋白相互作用网络分析得到 TP53、STAT3、AKT1、CASP3 和 TNF 等关键靶点。GO 富集分析得到生物过程条目 489 个、细胞组成条目 45 个和分子功能条目 89 个;KEGG 通路富集分析得到 159 条信号通路,其中通路主要与 PIK3-Akt 信号通路、IL-17 信号通路和 HIF-1 信号通路等密切相关。结论 基于网络药理学初步揭示鸡血藤抗肿瘤可能通过调节 TP53、STAT3、AKT1、CASP3 和 TNF 等关键蛋白,干扰 PIK3-Akt 信号通路、IL-17 信号通路和 HIF-1 信号通路等发挥作用。

关键词:网络药理学;鸡血藤;胃癌

中图分类号:R273

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.16.002

文章编号:1006-1959(2024)16-0007-05

Study on the Mechanism of Suberect Spatholobus Stem in the Treatment of Gastric Cancer Based on Network Pharmacology

Ji Lei¹,SHAN Hui-min²,WANG Yin-xiang¹,SUN Zhi-qin¹,ZHAI Chang-yun¹,WANG Jin-qiu¹

(Department of Oncology¹,Department of Pathology²,Yancheng Dafeng People's Hospital/Dafeng Clinical College,
Yangzhou University School of Medicine,Yancheng 224005,Jiangsu,China)

Abstract:Objective To predict the potential mechanism of Suberect Spatholobus Stem in the treatment of gastric cancer by network pharmacology. Methods The active components and corresponding targets of Suberect Spatholobus Stem were obtained by TCMSP database, and the gastric cancer targets were collected by GeneCards, TTD and OMIM databases. The intersection targets of drugs and diseases were obtained by Wayne diagram, and the intersection target protein interaction network (PPI) was constructed by STRING database. The GO function and KEGG pathway enrichment analysis of the intersection targets were performed using the DAVID online tool. Results A total of 24 active components of Suberect Spatholobus Stem were obtained, corresponding to 104 targets, and a total of 1639 gastric cancer targets were collected. A total of 66 intersection targets of Suberect Spatholobus Stem-gastric cancer were obtained by Venn diagram. Key targets such as TP53, STAT3, AKT1, CASP3 and TNF were obtained by protein interaction network analysis. GO enrichment analysis obtained 489 biological process items, 45 cell composition items and 89 molecular function items. KEGG pathway enrichment analysis obtained 159 signaling pathways, among which the pathways were mainly closely related to PIK3-Akt signaling pathway, IL-17 signaling pathway and HIF-1 signaling pathway. Conclusion Based on network pharmacology, it is preliminarily revealed that Suberect Spatholobus Stem anti-tumor may play a role by regulating key proteins such as TP53, STAT3, AKT1, CASP3 and TNF, and interfering with PIK3-Akt signaling pathway, IL-17 signaling pathway and HIF-1 signaling pathway.

Key words:Network pharmacology;Suberect Spatholobus Stem;Gastric cancer

胃癌(gastric cancer)是最常见恶性肿瘤之一,其发病率仅次于肺癌和肝癌,严重危害人类健康^[1]。目前治疗胃癌的手段主要包括手术切除、化疗、免疫

和靶向治疗等^[2]。由于缺乏早期症状,大多数胃癌被诊断时已是晚期,失去手术机会,而化疗、免疫和靶向治疗效果不佳。近年来,大量临床研究显示^[3,4],中医药在胃癌防治中具有积极的作用,特别是在改善临床症状、阻止癌前病变进一步发展、术后预防复发转移、对化疗的增效减毒等方面表现出明显优势。鸡血藤(Suberect Spatholobus Stem)来源于豆科植物密花豆(Spatholobus suberectus Dunn)的干燥藤根,有活血补血、调经止痛、舒经活络之功效。现代药理学研究表明^[5,6],鸡血藤具有一定的抗癌作用。但关于

基金项目:2022 年度国家中医药管理局“胃癌毒邪论治”重点研究室开放课题(编号:202263)

作者简介:季磊(1990.10-),男,江苏盐城人,硕士,住院医师,主要从事中医药抗肿瘤基础与临床研究

通讯作者:王晋秋(1976.11-),女,江苏盐城人,本科,副主任中医师,主要从事中医药抗肿瘤基础与临床研究

鸡血藤抗胃癌活性成分和作用机制仍不清楚，基于此，本研究利用网络药理学的方法筛选鸡血藤有效成分，预测其治疗胃癌的潜在作用机制，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 筛选鸡血藤活性成分及预测对应靶点 采用 TCMSP 在线数据库 (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 检索鸡血藤的化学成分。根据成分毒物动力学参数，设置药物口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ ，药物相似度(drug-like properties, DL) ≥ 0.18 为条件，筛选主要化学成分以及其对应靶标。

1.2 收集胃癌相关靶点 通过检索 GeneCards(<https://www.genecards.org>)、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd>) 和 OMIM(<https://www.omim.org>) 在线数据库，以“gastric cancer”检索词，收集胃癌相关靶点。

1.3 获取鸡血藤与胃癌共同靶点 利用生信数据分析平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>)，通过 Venn 图获取鸡血藤相关靶点和胃癌靶点的交集，即两者的共同靶点。

1.4 构建蛋白相互作用(PPI)网络 通过 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)，将鸡血藤和胃癌交集靶点输入该数据库检索框中，构建 PPI 网络图，并下载该 TSV 文件。利用 Cytoscape 3.7.1 软件载入 TSV 文件并进行可视化处理，再利用 Network Analyzer 功能，根据节点 degree 值筛选出排名前 5 的靶点。

1.5 GO 及 KEGG 富集分析 运用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) 中的在线分析工具，对鸡血藤和胃癌疾病共同靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析，并利用生信数据分析平台进行可视化处理。

2 结果

2.1 鸡血藤有效成分筛选 通过 TCMSP 数据库检索鸡血藤有效成分及作用靶点，以 OB $\geq 30\%$ ，DL ≥ 0.18 为条件，共获得活性成分共 24 个，见表 1。再根据活性成分预测靶标共 104 个，利用 Uiprot 数据库，制定检索参数为“Review”“Human”，然后转换靶蛋白名称为对应基因名简称。

表 1 鸡血藤的活性成分

序号	MOL ID	活性成分	OB(%)	DL
1	MOL000296	hederagenin	36.91	0.75
2	MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.23	0.78
3	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
4	MOL000392	formononetin	69.67	0.21
5	MOL000417	Calycosin	47.75	0.24
6	MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76
7	MOL000461	3,7-dihydroxy-6-methoxy-dihydroflavonol	43.8	0.26
8	MOL000468	8-o-Methylreyusi	70.32	0.27
9	MOL000469	3-Hydroxystigmast-5-en-7-one	40.93	0.78
10	MOL000470	8-C- α -L-arabinosylluteolin	35.54	0.66
11	MOL000471	aloe-emodin	83.38	0.24
12	MOL000483	(Z)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-N-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]acrylamide	118.35	0.26
13	MOL000490	petunidin	30.05	0.31
14	MOL000491	Angelicin	37.5	0.66
15	MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24
16	MOL000493	campesterol	37.58	0.71
17	MOL000497	licochalcone a	40.79	0.29
18	MOL000500	Vestitol	74.66	0.21
19	MOL000501	Consume close grain	68.12	0.27
20	MOL000502	Cajinin	68.8	0.27
21	MOL000503	Medicagol	57.49	0.6
22	MOL000506	Lupinidine	61.89	0.21
23	MOL000507	Psi-Baptigenin	70.12	0.31
24	MOL000006	luteolin	36.16	0.25

2.2 鸡血藤和胃癌交集靶点筛选 通过 GeneCards 数据库得到胃癌靶点 12 936 个,经过 3 次中位数筛选后获得最终靶点 1594 个。利用 TTD 数据库得到胃癌靶点 22 个。再通过 OMIM 数据库得到胃癌靶点 23 个。剔除重复靶点,将 3 个数据库收集的靶点取并集共得 1639 个胃癌靶点,与鸡血藤的 104 个靶点通过 Venn 图取交集,获得 66 个鸡血藤-胃癌交集靶点,即为鸡血藤治疗胃癌的潜在靶点,见图 1。

2.3 PPI 网络构建以及核心靶点筛选 66 个鸡血藤-胃癌的交集靶点通过 STRING 数据库在线工具绘制 PPI 网络,再利用 Cytoscape 3.6.1 软件进行可视化处理,见图 2。根据相互作用节点 degree 数值大小进行核心靶点筛选。节点 degree 数值越大,表明该靶点与其他靶点关系越紧密,代表这些靶点在 PPI 网络中起着重要作用。本研究筛选出 TP53、STAT3、

AKT1、CASP3 和 TNF 等关键蛋白。

2.4 GO 及 KEGG 富集分析 通过 DAVID 在线工具对鸡血藤-胃癌共同靶点进行 GO 富集分析,共获得生物过程(biological process, BP)489 个,主要涉及凋亡过程调控、RNA 聚合酶 II 启动子的转录调控、基因表达调控和细胞分裂调控等;细胞组成(cellular component, CC)45 个,主要涉及大分子复合物、核质、细胞核、细胞浆和线粒体等;分子功能(molecular function, MF)89 个,主要涉及酶结合、相同的蛋白质结合、蛋白激酶结合和泛素蛋白连接酶结合等,见图 3。同时对鸡血藤-胃癌共同靶点通过 DAVID 数据库进行 KEGG 通路富集分析,主要涉及 PIK3-Akt 信号通路、IL-17 信号通路和 HIF-1 信号通路等,见图 4。

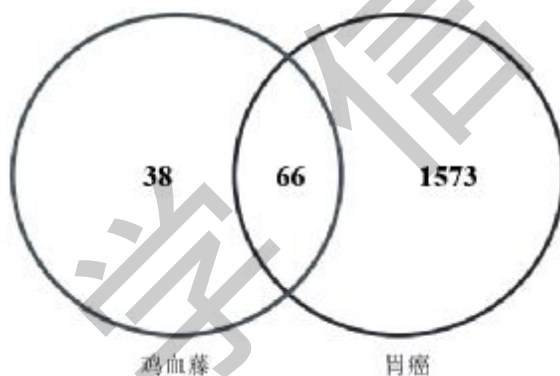


图 1 鸡血藤活性成分与胃癌交集靶点 Venn 图



图 2 鸡血藤治疗胃癌靶点蛋白相互作用网络图

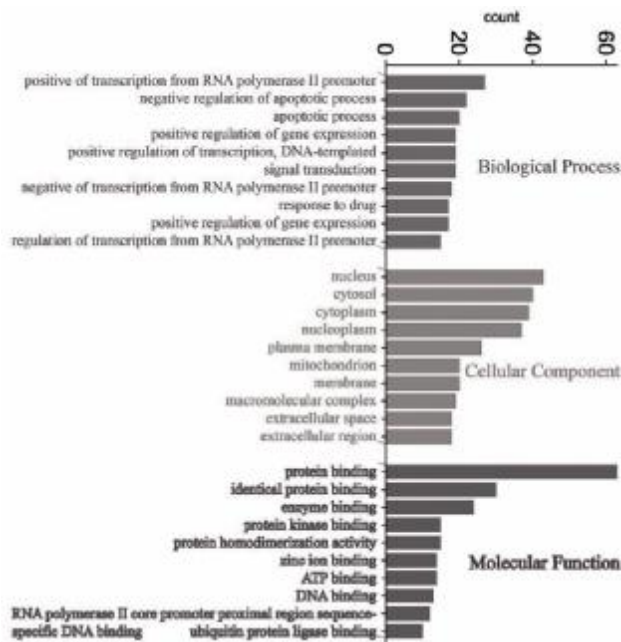


图 3 鸡血藤治疗肺癌靶点 GO 富集分析柱状图

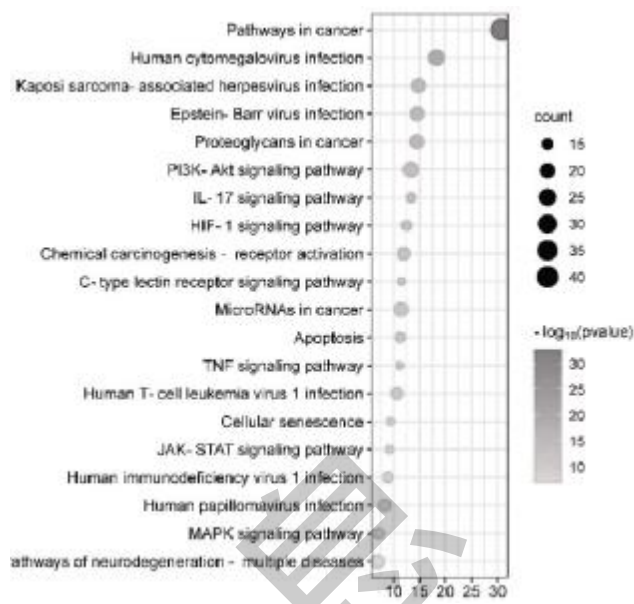


图 4 鸡血藤治疗肺癌靶点 KEGG 富集分析气泡图

3 讨论

鸡血藤抗肿瘤的具体分子机制仍不清楚,其部分原因在于鸡血藤成分复杂,作用靶点较多,很难通过传统的实验方法系统且全面的进行分析。网络药理学是基于系统生物学的理论,从系统层次和生物网络整体角度,研究“药物-靶标-疾病”的关系^[7]。因此,本研究利用网络药理学系统全面的预测鸡血藤抗胃癌的机制,以期鸡血藤防治胃癌提供分子理论基础。

本研究结果发现,常春藤皂苷元、胆固醇七葵酸盐、 β -谷甾醇、芒柄花黄素、异黄酮、甾醇等为鸡血藤治疗胃癌主要活性成分。现代药理学研究表明^[8],鸡血藤主要成分包括黄酮类、萜类、甾醇类、内酯类和苷类等。有研究通过网络药理学筛选出现抗癌活性成分,并通过细胞实验,甚至动物实验进一步验证,如李洵珣等^[9]研究发现,丰城鸡血藤成分中的木犀草素和白桦脂酸对人乳腺癌细胞增殖具有一定的抑制作用;陈康等^[10]研究显示,鸡血藤有效活性成分木犀草素和甘草查尔酮 A 对人肺癌 A549 有抑制作用;朱时纯等^[11]研究表明,鸡血藤成分中的樱黄素对人卵巢癌细胞增殖有明显抑制作用;谢君^[12]通过实验发现,鸡血藤有效成分甘草素、异甘草素能够抑制结肠直肠癌细胞的增殖。

本研究通过 PPI 网络分析发现,TP53、STAT3、AKT1、CASP3 和 TNF 等蛋白可能是鸡血藤治疗胃

癌的重要靶点。Chung Y 等^[13]研究显示,TP53 作为重要的抑癌基因,其改变包括 p53 突变、杂合性缺失以及蛋白过表达,是胃癌发生早期事件,也是胃癌预后和预测治疗反应的重要标志物。Ouyang S 等^[14]研究发现,STAT3 在胃癌发生和发展中起着重要作用,靶向抑制 STAT3 相关通路可以阻止或者减缓胃癌的发生和发展。Han Z 等^[15]研究显示,磷酸化-Akt1 在人胃癌中过表达,其水平与肿瘤分化和 pTNM 相关。Akt1 作为一种活性激酶,参与癌症的进展并促进癌症细胞的增殖,靶向负调控 Akt 可以抑制胃癌细胞分裂。Isobe N 等^[16]通过临床研究发现,Caspase-3 表达情况与肿瘤预后高度相关,抑制 Caspase-3 的激活可以避免肿瘤凋亡。

此外,本研究通过富集分析发现,鸡血藤治疗胃癌的作用机制可能主要涉及在 PIK3-Akt 信号通路、IL-17 信号通路和 HIF-1 信号通路等上。目前研究表明^[17],PI3K-Akt 信号通路在胃癌发生发展过程中起着重要作用,靶向作用于 PI3K-Akt 信号通路抑制胃癌进展成为潜在的治疗策略。薛雾松等^[18]研究显示,鸡血藤可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路,阻止结肠癌上皮间充质转化,进而促进细胞凋亡和抑制细胞增殖。Rao S 等^[19]研究显示,胃癌组织中 IL-17 表达水平高于正常组织,且胃癌患者 IL-17 高表达预后较差,提示 IL-17 信号通路与胃癌发生密切相关。HIF-1 信号通路在胃癌发生发展中扮演重要角

色,既往研究^[20,21]通过细胞实验研究发现,抑制 HIF-1 α 表达可以阻止胃癌生长和血管新生。

综上所述,本研究基于网络药理学成功预测鸡血藤治疗胃癌的活性成分、潜在靶点和信号通路,表明鸡血藤治疗胃癌具有“多成分、多靶点、多通路”的特点。但网络药理学具有一定的局限性,相关结论是通过在线工具预测,后期仍需要生物实验和临床研究进一步验证。

参考文献:

- [1] Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, et al. Gastric cancer [J]. *Lancet*, 2020, 396(10251): 635–648.
- [2] Ajani JA, D'Amico TA, Bentrem DJ, et al. Gastric Cancer, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2022, 20(2): 167–192.
- [3] Yang L, Li J, Hu Z, et al. A Systematic Review of the Mechanisms Underlying Treatment of Gastric Precancerous Lesions by Traditional Chinese Medicine [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 9154738.
- [4] 张成晶, 朱许丽, 张颖慧, 等. 基于寒热错杂病机中医药在胃癌各阶段防治中的研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2018, 24(4): 510–512, 532.
- [5] Xie F, Wang M, Su Y, et al. Unveiling Potential Mechanisms of *Spatholobi Caulis* against Lung Metastasis of Malignant Tumor by Network Pharmacology and Molecular Docking [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 1620539.
- [6] 钟春燕, 何宇鸿, 李元枢, 等. 鸡血藤复方提取物对 C57 小鼠 Lewis 肺癌实体瘤抑制作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(17): 4272–4275.
- [7] 世界中医药学会联合会. 网络药理学评价方法指南 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(4): 527–532.
- [8] 汪盈盈. 鸡血藤总黄酮滴丸的制备工艺及质量评价 [D]. 郑州: 郑州大学, 2016.
- [9] 李洵珣, 金晨, 陈康, 等. 基于网络药理学和分子对接分析丰城鸡血藤治疗乳腺癌的分子靶点和机制 [J]. *中国药理学通报*, 2022, 38(5): 767–775.
- [10] 陈康, 金晨, 程玉瑶, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨鸡血藤治疗肺癌的分子作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(4): 837–844.
- [11] 朱时纯, 蔡俊, 吴承玉, 等. 基于网络药理学和实验验证分析鸡血藤治疗卵巢癌的分子机制 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(3): 786–795.
- [12] 谢君. 鸡血藤膏治疗结直肠癌的物质基础和作用原理研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2021.
- [13] Chung Y, Lee HW, Park JH, et al. Mutant pattern of p53 predicts local recurrence and poor survival rate in gastric cancer [J]. *Histol Histopathol*, 2023, 38(9): 999–1007.
- [14] Ouyang S, Li H, Lou L, et al. Inhibition of STAT3–ferroptosis negative regulatory axis suppresses tumor growth and alleviates chemoresistance in gastric cancer [J]. *Redox Biol*, 2022, 52: 102317.
- [15] Han Z, Wu K, Shen H, et al. Akt1/protein kinase B α is involved in gastric cancer progression and cell proliferation [J]. *Dig Dis Sci*, 2008, 53(7): 1801–1810.
- [16] Isobe N, Onodera H, Mori A, et al. Caspase-3 expression in human gastric carcinoma and its clinical significance [J]. *Oncology*, 2004, 66(3): 201–209.
- [17] Fattahi S, Amjadi-Moheb F, Tabaripour R, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling in gastric cancer: Epigenetics and beyond [J]. *Life Sci*, 2020, 262: 118513.
- [18] 薛雾松, 刘仍海. 抵挡九加味鸡血藤通过 PI3K/AKT 信号通路抑制结直肠癌上皮间充质转化 [J]. *解放军医药杂志*, 2021, 33(4): 15–20.
- [19] Rao S, Zhao L, Zheng X, et al. Correlation of Serum IL-17, VEGF, and Lactate Dehydrogenase (LDH) Levels with Prognosis of Gastric Cancer [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 8126672.
- [20] Li M, Li G, Yang X, et al. HIF in Gastric Cancer: Regulation and Therapeutic Target [J]. *Molecules*, 2022, 27(15): 4893.
- [21] Li H, Cao B, Zhao R, et al. circDNMT1 Promotes Malignant Progression of Gastric Cancer Through Targeting miR-576-3p/Hypoxia Inducible Factor-1 α Axis [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 817192.

收稿日期: 2023-08-18; 修回日期: 2023-09-21

编辑/杜帆