

基于网络药理学的滋阴化痰方抗肿瘤作用机制分析

宋尚晋, 余嘉惠, 刘焯, 岳小强*

(海军军医大学附属长征医院, 上海 200003)

[摘要] **目的:**运用网络药理学的方法筛选滋阴化痰方的主要有效成分,预测其有效成分的抗肿瘤相关靶点;探讨其通过“多成分-多靶点-多通路”效应模型治疗肿瘤的机制。**方法:**通过中药化学成分数据库及文献,检索滋阴化痰方的化学成分,并依据 TCMSP 数据库的口服生物利用度(oral bioavailability, OB)和类药性指数(drug likeindex, DL)筛选出主要有效活性成分。借助 DRAR-CPI 分子对接服务器得到有效活性成分的潜在作用靶点,其后检索 DrugBank 和 TTD 数据库,收集肿瘤相关靶点并与之匹配,得到滋阴化痰方有效活性成分抗肿瘤的相关靶点。利用 Cytoscape 软件构建滋阴化痰方的有效活性成分-靶点网络图,分析其网络拓扑结构,并通过 DAVID 数据库对该方所涵盖的肿瘤相关靶点进行生物学功能和 KEGG 通路进行分析。**结果:**本研究共筛选出滋阴化痰方有效成分 25 种,肿瘤相关靶点 92 个,其中 PDPK1, G3P, DHB1, AURKA, PPAP, S10A9 和 NQO1 为滋阴化痰方主要抗肿瘤靶点。并发现该方可能通过调节细胞增殖、细胞迁移、细胞凋亡、磷酸化、信号转导等生物学过程, FoxO, 磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)-蛋白激酶 B(Akt), ErbB, Rap1, 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK), 大鼠肉瘤(Ras), 免疫球蛋白 E-Fc 受体 I (FcER I) 等信号通路发挥抗肿瘤作用。**结论:**该研究初步验证了滋阴化痰方发挥抗肿瘤效应的主要靶点和相关通路,为进一步实验研究揭示其作用机制奠定了基础。

[关键词] 滋阴化痰方; 肿瘤; 网络药理学; 作用机制

[中图分类号] R285; R22; R289; R24 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)16-0163-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181140

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180315.0926.012.html>

[网络出版时间] 2018-03-15 10:47

Prediction of Active Constituents and Potential Anti-tumor Mechanism of Ziyin Huatan Decoction Based on Network Pharmacology

SONG Shang-jin, YU Jia-hui, LIU Xuan, YUE Xiao-qiang*

(Changzheng Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200003, China)

[Abstract] **Objective:** To predict the active compounds and effective anti-tumor targets of Ziyin Huatan decoction (ZYHTD) by network pharmacology, and explore its anti-tumor mechanism through ‘multi-compounds, multi-targets, and multi-pathways’ model. **Method:** The chemical constituents of ZYHTD were searched through TCM chemical component database and previous literature. The potential active compounds were screened based on oral bioavailability (OB) and drug likeindex (DL) in TCMSP database. The potential targets of active compounds were obtained based on DRAR-CPI docking server, and then the anti-tumor targets in Drugbank and TTD database were collected and matched to obtain the peculiar anti-tumor targets of ZYHTD. Further, the effective constituents-targets network of ZYHTD was established by using Cytoscape software and then the network topology was studied. Finally the biological function and KEGG pathway of all anti-tumor targets were analyzed through DAVID database. **Result:** A total of 25 active compounds, 92 anti-tumor targets were predicted, from which PDPK1, G3P, DHB1, AURKA, PPAP, S10A9 and NQO1 were the main anti-tumor targets of ZYHTD. The functional anti-tumor

[收稿日期] 20171223(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81603434);上海市科委项目(15401900600);上海市卫计委项目(zzyb-2017029)

[第一作者] 宋尚晋,在读硕士,从事中医防治消化系统疾病研究, Tel:021-20256533, E-mail:songshangjin@smmu.edu.cn

[通信作者] *岳小强,博士,副教授,从事中医内科研究, Tel:021-81885472, E-mail:xqyue@smmu.edu.cn

mechanism of ZYHTD may associated with regulating the biological processes such as cell proliferation, cell migration, apoptotic process, phosphorylation, and signal transduction, as well as the signaling pathways such as FoxO, PI3K-Akt, ErbB, Rap1, MAPK, Ras and FcER1. **Conclusion:** This research preliminarily evidenced the main targets and related pathways for the anti-tumor effects of ZYHTD, laying a foundation for further experimental studies to reveal the mechanism.

[**Key words**] Ziyin Huatan decoction; tumor; network pharmacology; mechanism

网络药理学(network pharmacology)是一种基于系统生物学理论,运用高通量组学数据分析、计算机虚拟计算以及网络数据库检索,并通过构建生物信息网络、分析网络拓扑结构以探究靶点与疾病之间的复杂非线性网络关系的新兴生物信息学研究方法^[1-2]。该方法基于“多药物多靶点”的理念构建“药物-靶点-疾病”多层次的网络结构,以实现从整体上预测药物靶点的目的^[3]。这一方法的出现,为多成分的中药复方的药理作用机制研究提供了新的思路和技术手段^[4-5]。滋阴化痰方是基于胃癌“痰证理论”^[6-10](该理论已获教育部科技进步二等奖^[11],上海市医学科技二等奖^[12])所创制的从痰论治胃癌的方剂,系根据上海长征医院院内制剂金龙蛇口服液(颗粒)(南制字[2011]F150109,南制字[2011]F150602)结合胃癌证候规律筛选精简而来,是海军军医大学附属长征医院中医科专门针对晚期胃癌的常用方剂,由半夏、百合、白花蛇舌草组成,其针对晚期胃癌患者疗效显著,目前该方正在申报国家专利(申请号 CN201710357848.3)。但其抗肿瘤的分子机制尚未阐明。本研究旨在运用网络药理学的方法,对滋阴化痰方中可能抑制肿瘤增殖、侵袭、转移的主要成分,作用靶点以及信号通路进行分析,为进一步借助实验探究确切机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 滋阴化痰方主要化学成分的筛选 利用中药化学成分数据库 TCMSP(<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)^[13], HIT(<http://lifecenter.sgst.cn/hit>)^[14], TCMID(<http://www.megabionet.org/tcmid>)^[15], TCM Database @ Taiwan(<http://tcm.cmu.edu.tw/>)^[16]和文献检索,查找百合、半夏、白花蛇舌草的化学成分。

1.2 滋阴化痰方有效化学成分的筛选 中药复方多是通过口服实现吸收、分布、代谢、排泄(absorption, distribution, metabolism, excretion; ADME)等药理代谢过程。口服生物利用度(oral bioavailability, OB)是指药物经口服给药后药物被机体吸收进入全身血液循环的相对量和速率,是药

代动力学最重要的参数之一。类药性指数(drug likeindex, DL)是指化合物与 DrugBank(<https://www.drugbank.ca/>)^[17]数据库里所有已知药物之间的相似程度,类药性指数低,则表示该化合物不适合作为药物。以上 2 个参数是实现中药化学成分 ADME 的关键参数^[18]。

将上述 4 个数据库查到的化学成分汇总,并删除重复化学成分,利用 TCMSP 数据库获得每个化学成分的 OB 和 DL,选取同时满足 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的化学成分作为有效活性成分^[19-20],并将有效活性成分的结构保存为 mol2 格式。

1.3 滋阴化痰方潜在作用靶点的预测 DOCK 分子对接软件是 Kuntz 研究小组研发的^[21],成功用于分子对接的软件,DRAR-CPI(<https://cpi.bio-x.cn/drar/>)^[22]是基于 DOCK 分子对接程序开发的反向分子对接服务器,可以将药物分子和蛋白的三维结构特征进行对接,并通过蛋白-配体相互作用能的亲和性打分函数打分并排序。对接分数(Z-score)代表药物分子与蛋白的相互作用强度,服务器研发者认为,与药物分子相互作用 $Z\text{-score} < -1$ 的蛋白质是良好的潜在靶点^[22]。登陆 DRAR-CPI 服务器并上传滋阴化痰方有效活性分子的 mol2 格式文件,下载结果并将符合筛选条件的蛋白靶点 PDB ID 导入 Uniprot(<http://www.uniprot.org/>)^[23]数据库,转化成滋阴化痰方有效活性成分的基因靶点。

1.4 肿瘤相关靶点的收集 通过查询 DrugBank 和 Therapeutic Targets Database(<http://bidd.nus.edu.sg/BIDD-Databases/TTD/TTD.asp>)^[24]数据库,收集目前已被批准、正在临床试验以及在研究中的肿瘤相关靶点,并与滋阴化痰方有效活性成分的基因靶点匹配,得到滋阴化痰方有效活性成分抗肿瘤的相关靶点。

1.5 网络构建与分析 Cytoscape 是一款可以图形化显示网络并可进行分析和编辑的开放性免费软件,其可以将 Microsoft Excel 等文件作为输入源,并根据相关数据形成可视化网络。笔者利用 Cytoscape 3.5.1(<http://www.cytoscape.org/>)^[25]构

建有效成分-靶点网络,在输出的结果中,以不同颜色的节点代表有效成分和靶点。若某一靶点为化合物的潜在作用靶点,则两者以边连接。Network Analyzer 是 Cytoscape 中分析网络拓扑参数的插件^[26],其中节点度(degree)是其中重要的拓扑参数,指与该点相连的边的个数,也即与该点相互作用的成分(或靶点)的个数,值越大意味着该点在方中重要性越大。

1.6 靶点生物学功能及通路分析 将得到滋阴化痰方有效活性成分抗肿瘤的相关靶点,利用生物学信息注释数据库 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>)^[27]对靶基因进行基因本体(GO)生物学过程富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,以期找出最显著富集的生物学注释,用 Bonferroni 法校正后 $P < 0.01$ 的项目被认为是显著富集^[28-29]。

2 结果

2.1 滋阴化痰方化学成分筛选 截止至 2017 年 11 月,通过查找以上 4 个中药化学成分数据库及文献挖掘,共收集了百合化学成分 84 种,半夏化学成分 161 种,白花蛇舌草化学成分 76 种,汇总去重后,滋阴化痰方中共有化学成分 284 种,其中同时满足 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的化学成分共有 31 个,去除没有靶点的化学成分后,百合中含有 7 种、半夏 16 种、白花蛇舌草 6 种,其中 β -谷甾醇(β -sitosterol)和豆甾醇(stigmasterol)是 3 药共有的化学成分,共得到滋阴化痰方中有效化学成分 25 种。见表 1。

2.2 滋阴化痰方抗肿瘤靶点的预测 通过 DRAR-CPI 服务器分子对接,返回 25 种化学成分 Z -score < -1 的蛋白靶点 1 352 个,去重后共得到 306 个靶点,将 306 个蛋白靶点的 PDB ID 输入 uniprot 后共得到 294 潜在基因靶点。通过检索 DrugBank 和 TTD 数据库,共得到肿瘤相关靶点 833 个,与滋阴化痰方有效化学成分的潜在靶点匹配后,共得到滋阴化痰方有效活性成分抗肿瘤的相关靶点 92 个。见表 2。

2.3 成分-靶点网络构建与分析 将筛选出的 25 个滋阴化痰方的有效化学成分和其对应的抗肿瘤相关靶点,导入 Cytoscape 软件形成滋阴化痰方的成分-靶点网络图(图 1)。图中不同颜色的节点分别代表滋阴化痰方潜在的有效活性成分和抗肿瘤靶点,节点的大小代表节点度的大小。该网络中共有 383 条边,代表滋阴化痰方有效成分与靶点的对应关系;共有 117 个节点,其中 25 个节点为化学成分,92 个节

表 1 滋阴化痰方有效化学成分

Table 1 Active compounds of ZiyinHuatandecocton (ZYHTD)

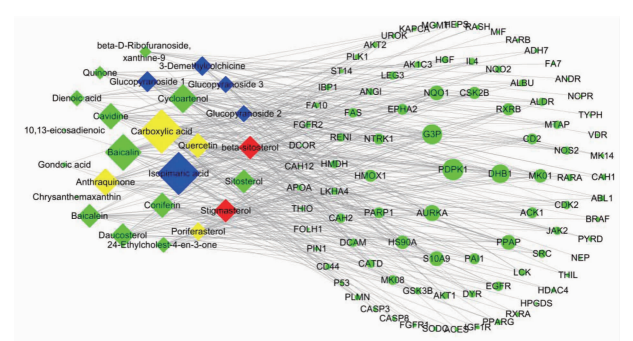
来源	成分	OB	DL	节点度	
百合	26-O-beta-D-glucopyranosyl-3beta, 26-dihydroxy-choleslen-16, 22-dioxo-3-O-alpha-L-rhamnopyranosyl-(1-2)-beta-D-glucopyranoside	32.43	0.80	15	
	26-O-beta-D-glucopyranosyl-3beta, 26-dihydroxy-cholestan-16, 22-dioxo-3-O-alpha-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-beta-D-glucopyranoside	32.43	0.80	12	
	26-O-beta-D-glucopyranosyl-3beta, 26-dihydroxy-5-cholesten-16, 22-dioxo-3-O-alpha-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)-beta-D-glucopyranoside	35.11	0.81	12	
	3-demethylcolchicine	39.34	0.57	14	
	isopimaric acid	36.20	0.28	32	
	半夏	24-ethylcholest-4-en-3-one	36.08	0.76	11
		cavidine	35.64	0.81	19
		baicalein	33.52	0.21	17
		baicalin	40.12	0.75	27
		gondoic acid	30.70	0.20	3
chrysanthemaxanthin		38.72	0.58	1	
daucosterol		36.91	0.76	17	
sitosterol		36.91	0.75	17	
coniferin		31.11	0.32	18	
10, 13-eicosadienoic 12, 13-epoxy-9-hydroxynonadeca-7, 10-dienoic acid		42.15	0.24	11	
(3S, 6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl) piperazine-2, 5-quinone	46.89	0.27	9		
白花蛇舌草	cycloartenol	38.69	0.78	21	
	beta-D-ribofuranoside, xanthine-9	44.72	0.21	8	
	poriferasterol	43.83	0.76	13	
	(4aS, 6aR, 6aS, 6bR, 8aR, 10R, 12aR, 14bS)-10-hydroxy-2, 2, 6a, 6b, 9, 9, 12a-heptamethyl-1, 3, 4, 5, 6, 6a, 7, 8, 8a, 10, 11, 12, 13, 14b-tetradecahydropicene-4a-carboxylic acid	32.03	0.76	33	
	2-methoxy-3-methyl-9, 10-anthraquinone	37.83	0.21	20	
	quercetin	46.43	0.28	18	
	3 药共有	beta-sitosterol	36.91	0.75	17
		stigmasterol	43.83	0.76	17

点为药物靶点。图中 25 个化学成分的节点平均度为 15.32,其中大于节点平均度的成分有 13 个(表

表 2 滋阴化痰方潜在抗肿瘤相关靶点

Table 2 Potential effective anti-tumor targets of ZYHTD

潜在靶点	PDB ID	潜在靶点	PDB ID	潜在靶点	PDB ID
ABL1	1OPL	FA7	1Z6J	NQO1	1KBQ
ACES	1F8U	FAS	2CG5	NQO2	1SG0
ACK1	1U54	FGFR1	2FGI	NR1H3	1UHL
ADH7	1D1T	FGFR2	2PVY	NTRK1	1WWA
AK1C3	1XF0	FOLH1	2C6C	p53	2FOJ
AKT1	3CQW	G3P	1ZNQ	PAI1	1A7C
AKT2	1O6L	HDAC4	2VQM	PARP1	1WOK
ALBU	2BX8	HEPS	1Z8G	PDPK1	2BIY
ALDR	1T40	HGF	1GMN	PIN1	1PIN
ANDR	1E3G	HMDH	1HWL	PLK1	1Q4O
ANGI	1ANG	HMOX1	1S8C	PLMN	2PK4
APOA	1I71	HPGDS	1IYH	PPAP	1CVI
AURKA	1MUO	HS90A	1YET	PPARG	1I71
BRAF	1UWJ	IBP1	1ZT3	PYRD	1D3H
CAH1	2CAB	IGF1R	2OJ9	RARA	1DKF
CAH12	1JD0	IL-4	2CYK	RARB	1XAP
CAH2	1A42,1G54	GSK3B	1JIB,1O6L,3CQW	RXRRA	1XVP,1FBY
CASP3	1GFW	JAK2	2B7A	RASH	5P21
CASP8	2C2Z	KAPCA	2GU8	RENI	2G1N
CATD	1LYW	LCK	1QPC	S10A9	1HRJ
CD2	1HNF	LEG3	1KJL	SODC	2C9V
CD44	1POZ	LKHA4	1HS6	SRC	1YOL
CDK2	1OIQ	MGMT	1EH8	ST14	1EAX
CSK21	1JWH	MIF	1GCZ	TF	1Z6J
DCAM	1I7B	MK01	1TV0	THIL	2F2S
DCOR	1D7K	MK08	1UKI	THIO	1ERU
DHB1	1DHT	MK14	1A9U	TYPH	1UOU
DYR	1BOZ	MTAP	1SD2	UBP7	2FOJ
EGFR	1M17	NCPR	1B1C	UROK	1VJA
EPHA2	1MQB	NEP	1DMT	VDR	1DB1
FA10	1F0R	NOS2	1NSI		



蓝色菱形为百合成分,绿色菱形为半夏成分,黄色菱形为白花蛇舌草成分,红色菱形为 3 药共有,绿色圆形为抗肿瘤靶点

图 1 滋阴化痰方的成分-抗肿瘤靶点网络

Fig. 1 Interaction networks of effective constituents-antitumor targets of ZYHTD

2.4 滋阴化痰方潜在抗肿瘤靶点通路注释分析运用 在线生物学信息注释数据库 DAVID,对滋阴化痰方潜在的抗肿瘤靶点的生物学功能及信号通路分析进行展现和富集分析,得到滋阴化痰方的 310 个 GO 生物学过程,其中包括凋亡过程、自身磷酸化、丝氨酸磷酸化,细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 1/ERK2 级联反应、细胞迁移、细胞增殖、信号转导的调节在内的 21 个生物学过程有显著意义。见表 3。滋阴化痰方富集的 KEGG 通路有 96 个,其中有包括癌症通路, FoxO 信号通路, PI3K-Akt 信号通路, ErbB 信号通路, Rap1 信号通路, MAPK 信号通路, Ras 信号通路等在内的 31 个 KEGG 通路有显著意义。见表 4。

3 讨论

网络药理学最早由 Hopkins^[1] 教授提出,该方法摒弃了“一种疾病、一个靶点、一种药物”的传统药物研究思维,而是基于“多药物多靶点”理念构建“药物-靶点-疾病”多层次的网络结构,以实现从整体上预测药物靶点的目的^[3]。

本研究借助网络药理学研究方法,筛选了滋阴化痰方中 25 种有效活性成分,并通过 DRAR-CPI 服务器将得到的有效活性成分进行反向分子对接,共得到 294 个滋阴化痰方潜在作用靶点,并与检索得到的肿瘤靶点匹配后,得到滋阴化痰方潜在抗肿瘤靶点 92 个。通过 Cytoscape 构建有效活性成分-靶点作用网络,并分析发现,有效活性成分中 10-羟基七甲基十四氢苈羧酸,异烟酸,黄芩苷,环阿乔醇,2-甲氧基-3-甲基-9,10-蒽醌,卡维丁,松柏苷,槲皮素,谷甾醇,黄芩素,β-谷甾醇,豆甾醇,胡萝卜苷节点平均度 > 17,说明这些活性成分的潜在抗肿瘤靶点均

1); 117 个药物靶点的节点平均度为 4.26,大于节点平均度的药物靶点为 33 个,其中受 10 个以上药物活性成分调节的靶点(节点平均度 ≥ 10)有 7 个,分别是 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (PDPK1),甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (G3P),雌二醇 17-β-脱氢酶 1 (DHB1),极光激酶 A (AURKA),前列腺酸性磷酸酶 (PPAP),S100-A9 蛋白 (S10A9),醌氧化还原酶 1 (NQO1)。

表 3 滋阴化痰方潜在抗肿瘤靶点 GO 富集分析

Table 3 Gene ontology analysis on potential effective anti-tumor targets of ZYHTD

ID	GO 生物学过程	基因数/个	占比/%	P
GO:0043066	negative regulation of apoptotic process	20	21.74	3.48×10^{-12}
GO:0046777	protein autophosphorylation	13	14.13	1.42×10^{-10}
GO:0018105	peptidyl-serine phosphorylation	11	11.96	1.40×10^{-9}
GO:0070374	positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade	11	11.96	3.62×10^{-8}
GO:0030335	positive regulation of cell migration	11	11.96	5.83×10^{-8}
GO:0042493	response to drug	13	14.13	8.79×10^{-8}
GO:0045471	response to ethanol	9	9.78	9.88×10^{-8}
GO:0043525	positive regulation of neuron apoptotic process	7	7.61	1.11×10^{-7}
GO:0006468	protein phosphorylation	15	16.30	1.54×10^{-7}
GO:0008284	positive regulation of cell proliferation	15	16.30	2.00×10^{-7}
GO:0050731	positive regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation	8	8.70	2.97×10^{-7}
GO:0046677	response to antibiotic	6	6.52	7.50×10^{-7}
GO:0048661	positive regulation of smooth muscle cell proliferation	7	7.61	8.48×10^{-7}
GO:0045944	positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	20	21.74	1.02×10^{-6}
GO:0048015	phosphatidylinositol-mediated signaling	8	8.70	1.71×10^{-6}
GO:0018108	peptidyl-tyrosine phosphorylation	9	9.78	1.77×10^{-6}
GO:0018107	peptidyl-threonine phosphorylation	6	6.52	1.82×10^{-6}
GO:0038083	peptidyl-tyrosine autophosphorylation	6	6.52	2.37×10^{-6}
GO:0071222	cellular response to lipopolysaccharide	8	8.70	2.63×10^{-6}
GO:0007165	signal transduction	21	22.83	3.07×10^{-6}
GO:0006919	activation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process	7	7.61	5.79×10^{-6}

表 4 滋阴化痰方潜在抗肿瘤靶点 KEGG 通路分析

Table 4 KEGG pathway analysis on potential effective anti-tumor targets of ZYHTD

ID	KEGG 信号通路	基因数 / 个	占比 / %	P	ID	KEGG 信号通路	基因数 / 个	占比 / %	P
hsa05200	pathways in cancer	26	28.26	5.15×10^{-13}	hsa05152	tuberculosis	12	13.04	4.54×10^{-6}
hsa05215	prostate cancer	15	16.30	6.48×10^{-13}	hsa04919	thyroid hormone signaling pathway	10	10.87	5.16×10^{-6}
hsa05205	proteoglycans in cancer	17	18.48	5.78×10^{-10}	hsa04010	MAPK signaling pathway	14	15.22	5.19×10^{-6}
hsa05223	non-small cell lung cancer	10	10.87	1.03×10^{-8}	hsa05210	colorectal cancer	8	8.70	5.79×10^{-6}
hsa05160	hepatitis C	13	14.13	2.68×10^{-8}	hsa05219	bladder cancer	7	7.61	6.03×10^{-6}
hsa04068	FoxO signaling pathway	13	14.13	2.92×10^{-8}	hsa05145	toxoplasmosis	10	10.87	6.87×10^{-6}
hsa04914	progesterone-mediated oocyte maturation	11	11.96	4.19×10^{-8}	hsa05214	glioma	8	8.70	7.97×10^{-6}
hsa05218	melanoma	10	10.87	8.81×10^{-8}	hsa04014	Ras signaling pathway	13	14.13	8.25×10^{-6}
hsa04722	neurotrophin signaling pathway	12	13.04	9.12×10^{-8}	hsa05169	Epstein-Barr virus infection	12	13.04	8.99×10^{-6}
hsa05213	endometrial cancer	9	9.78	1.02×10^{-7}	hsa04664	Fc epsilon RI signaling pathway	8	8.70	1.08×10^{-5}
hsa04151	PI3K-Akt signaling pathway	18	19.57	2.35×10^{-7}	hsa04510	focal adhesion	12	13.04	1.93×10^{-5}
hsa04012	ErbB signaling pathway	10	10.87	5.24×10^{-7}	hsa04660	T cell receptor signaling pathway	9	9.78	2.02×10^{-5}
hsa05230	central carbon metabolism in cancer	9	9.78	5.38×10^{-7}	hsa04910	insulin signaling pathway	10	10.87	2.45×10^{-5}
hsa05216	thyroid cancer	7	7.61	7.10×10^{-7}	hsa04550	signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	10	10.87	2.75×10^{-5}
hsa04917	prolactin signaling pathway	9	9.78	1.21×10^{-6}	hsa05161	hepatitis B	10	10.87	3.63×10^{-5}
hsa04015	Rap1 signaling pathway	13	14.13	3.86×10^{-6}					

在 17 个以上;在潜在抗肿瘤靶点中,PDPK1,G3P,DHB1,AURKA,PPAP,S10A9 和 NQO1 分别受 10 个以上的活性成分调节,这也体现中药及复方通过“多靶点、多途径、协同作用”的方式进行抗肿瘤。

通过 GO 生物学过程富集分析发现,滋阴化痰方可以影响细胞增殖、凋亡、迁移,蛋白的磷酸化,RNA 聚合酶启动子转录,细胞信号转导等多种生物学过程,这些生物过程,也是目前对肿瘤研究的主要方向^[30]。KEGG 通路分析发现,滋阴化痰方有效活性成分潜在抗肿瘤靶点在前列腺癌、非小细胞肺癌、黑色素瘤、子宫内膜癌、甲状腺癌、神经胶质瘤、结直肠癌、膀胱癌等肿瘤中显著富集;并在 EB 病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒等肿瘤高危因素中富集;并可能通过调节 FoxO,PI3K-蛋白激酶 B(Akt),ErbB,Rap1,MAPK,Ras,FcERI,神经营养因子,甲状腺激素,T 细胞受体,胰岛素,干细胞多能性等多条信号通路发挥其抗肿瘤作用。现有药理学研究已经证实滋阴化痰方中的百合^[31]、半夏^[32]、白花蛇舌草^[33]均有显著的抗肿瘤活性,其有效的化学成分如 β -谷甾醇^[34-35]、豆甾醇^[36]、槲皮素^[37]、黄芩素^[38]、松柏苷^[39]、胡萝卜苷^[40]等也都有良好的抗肿瘤作用;槲皮素^[41-42]和黄芩苷^[43-44]均能通过调节包括 PI3K-Akt,MAPK 在内的多种信号通路,抑制肿瘤细胞的侵袭、转移以及促进细胞凋亡,以达到抑制肿瘤活性的目的,这与笔者通过网络药理学的方法得出的结果是吻合的。

虽然通过网络药理学分析,笔者从理论上初步揭示了滋阴化痰方通过“多药物、多成分、多靶点、协同作用”抗肿瘤效应的发生机制,发现滋阴化痰方相关有效成分能够作用于众多肿瘤靶点,但对于整个复方对肿瘤细胞的作用如何,以及确切作用机制是什么,还有待进一步的实验研究证实与探索。

[参考文献]

[1] Hopkins A L. Network pharmacology [J]. Nat Biotechnol, 2007,25(10):1110-1111.
[2] Hopkins A L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery [J]. Nat Chem Biol, 2008,4(11):682-690.
[3] Drews J. Drug discovery: a historical perspective [J]. Science, 2000,287(5460):1960-1964.
[4] 刘洪,范欣生.甘遂与甘草反药相互作用的网络药理学分析 [J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(9):186-192.
[5] 刘鑫馗,吴嘉瑞,蒯梦娟,等.基于网络药理学的吴茱

萸汤作用机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(16):203-210.
[6] 修丽娟,魏品康,秦志丰,等.化痰中药抗肿瘤复发转移机制研究进展 [J]. 中华中医药杂志,2014,29(9):2886-2889.
[7] 刘龙,顾群浩,张晓东,等.胃癌从痰论治探微 [J]. 中医杂志,2013,54(16):1432-1434.
[8] 施俊,魏品康.胃癌从痰论治理论体系 [J]. 中西医结合学报,2011,9(6):581-587.
[9] 李春杰,魏品康,施俊,等.浅谈恶性肿瘤从痰论治的思路 [J]. 中医杂志,2007,48(11):1049-1050.
[10] 何水勇,魏品康.肿瘤从痰论治的研究集要 [J]. 实用中医内科杂志,2004,18(6):486-487.
[11] 中华人民共和国教育部.教育部关于 2016 年度高等学校科学研究优秀成果奖(科学技术)奖励的决定 [EB/OL]. http://www.moe.edu.cn/srcsite/A16/s7062/201703/t20170313_299395.html,2017-02-02/2017-12-23.
[12] 魏品康.胃癌诊治新论:从痰论治消化系统肿瘤的理论与实践 [M].上海:上海科技教育出版社,2012:1-20.
[13] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform, 2014, doi: 10.1186/1758-2946-6-13.
[14] YE H, YE L, KANG H, et al. HIT: linking herbal active ingredients to targets [J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39(Database issue): D1055-D1059.
[15] XUE R, FANG Z, ZHANG M, et al. TCMID: traditional Chinese medicine integrative database for herb molecular mechanism analysis [J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(Database issue): D1089-D1095.
[16] CHEN C Y. TCM Database[®] Taiwan: the world's largest traditional Chinese medicine database for drug screening in silico [J]. PLoS One, 2011,6(1):e15939.
[17] WISHART D S, KNOX C, GUO A C, et al. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration [J]. Nucleic Acids Res, 2006,34(Database issue):D668-D672.
[18] LI J, ZHAO P, LI Y, et al. Systems pharmacology-based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufeiyishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease [J]. Sci Rep, 2015,doi: 10.1038/srep15290.
[19] XU X, ZHANG W, HUANG C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability [J]. Int J MolSci, 2012, 13(6):6964-6982.
[20] Walters J R. New advances in the molecular and cellular

- biology of the small intestine [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2002,18(2):161-167.
- [21] 宋奎全, 王晓冬, 孙庆. 血栓性浅静脉炎内治法的最新进展[J]. *中外医学研究*, 2016,14(28):161-163.
- [22] LUO H, CHEN J, SHI L, et al. DRAR-CPI: a server for identifying drug repositioning potential and adverse drug reactions via the chemical-protein interactome[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011,39:492-498.
- [23] Apweiler R, Bairoch A, WU C H, et al. UniProt: the universal protein knowledgebase [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004,32(Database issue):D115-D119.
- [24] YANG H, QIN C, LI Y H, et al. Therapeutic target database update 2016: enriched resource for bench to clinical drug target and targeted pathway information [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016,44(Database issue):D1069-D1074.
- [25] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003,13(11):2498-2504.
- [26] Assenov Y, Ramirez F, Schelhorn S E, et al. Computing topological parameters of biological networks [J]. *Bioinformatics*, 2008,24(2):282-284.
- [27] HUANG D W, Sherman B T, TAN Q, et al. The david gene functional classification tool: a novel biological module-centric algorithm to functionally analyze large gene lists[J]. *Genome Biol*, 2007,8(9):R183.
- [28] HUANG D W, Sherman B T, Lempicki R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. *Nat Protoc*, 2009,4(1):44-57.
- [29] HUANG D W, Sherman B T, Lempicki R A. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists [J]. *Nucleic Acids Res*, 2009,37(1):1-13.
- [30] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011,144(5):646-674.
- [31] 刘朝圣, 龚坚, 申梦洁. 湘西龙山百合对小鼠 B-16 黑色素瘤细胞黑色素含量、酪氨酸酶活性的影响 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2017,37(2):145-148.
- [32] 刘文亚, 顾媛媛, 巩颖. 生半夏抗肿瘤作用初探[J]. *临床合理用药杂志*, 2016,9(20):93-94.
- [33] 黄俊廷, 刘宇, 黄楚栓, 等. 刘伟胜教授治疗肺癌用药规律的挖掘分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017,23(17):222-227.
- [34] Choi J N, Choi Y H, Lee J M, et al. Anti-inflammatory effects of beta-sitosterol-beta-D-glucoside from *Trachelospermum jasminoides* (Apocynaceae) in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophages [J]. *Nat Prod Res*, 2012, 26 (24): 2340-2343.
- [35] Tasyriq M, Najmuldeen I A, In L L, et al. 7alpha-hydroxy-beta-sitosterol from *Chisocheton tomentosus* induces apoptosis via dysregulation of cellular Bax/Bcl-2 ratio and cell cycle arrest by downregulating ERK1/2 activation[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012,doi:10.1155/2012/765316.
- [36] Kim Y S, LI X F, KANG K H, et al. Stigmasterol isolated from marine microalgae *Navicula incerta* induces apoptosis in human hepatoma HepG2 cells [J]. *BMB Rep*, 2014,47(8):433-438.
- [37] Brito A F, Ribeiro M, Abrantes A M, et al. New approach for treatment of primary liver tumors: the role of quercetin[J]. *Nutr Cancer*, 2016,68(2):250-266.
- [38] WANG L, LING Y, CHEN Y, et al. Flavonoid baicalein suppresses adhesion, migration and invasion of MDA-MB-231 human breast cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2010,297(1):42-48.
- [39] 惠秋娣, 裴慧, 钱士辉. 细柱五加茎中6种化合物体外对人肺癌细胞株 A549 的生长抑制作用[J]. *中国野生植物资源*, 2011,30(4):32-34.
- [40] 刘星, 肖游章. 胡萝卜苷抑制 HepG-2 细胞增殖和迁移及拓扑异构酶表达[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2016,25(5):402-405.
- [41] Kim M C, Lee H J, Lim B, et al. Quercetin induces apoptosis by inhibiting MAPKs and TRPM7 channels in AGS cells [J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33 (6): 1657-1663.
- [42] 孙佳, 赵冬耕, 王明艳, 等. 槲皮素对 SMMC-7721 肝癌细胞 PI3K/AKT 信号通路影响的探讨[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012,18(18):223-226.
- [43] HUANG Y, HU J, ZHENG J, et al. Down-regulation of the PI3K/Akt signaling pathway and induction of apoptosis in CA46 Burkitt lymphoma cells by baicalin [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2012, doi: 10.1186/1756-9966-31-48.
- [44] 金鹏, 许海舰, 徐宝欣, 等. 黄芩苷研究现状及其镁盐研究前景[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017,23(20):228-234.

[责任编辑 全燕]