

· 数据挖掘 ·

基于网络药理学探讨桔梗-苦杏仁与肺癌相关分子机制

林瑞婷¹, 陈芝强¹, 林丽珠^{2*}

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510000; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510000)

[摘要] 目的:基于网络药理学方法筛选桔梗-苦杏仁药对中的活性成分,预测治疗癌症的作用靶点及信号通路,构建多成分-多靶点-多通路的相互作用网络,进一步探究其治疗肺癌的可能作用机制。方法:通过中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)以及文献查阅,检索并收集桔梗-苦杏仁的活性成分及其对应的靶标。利用UniProt数据库和Genecards数据库获得桔梗-苦杏仁治疗肺癌的潜在靶标基因。用Cytoscape 3.6.0软件构建“成分-靶标”网络。结合String数据库及Cytoscape软件中的Generate style from statistics工具,构建蛋白质相互作用网络。通过Systems Dock Web Site网络服务器与桔梗-苦杏仁的活性成分进行分子对接。利用功能注释生物信息学分析平台(DAVID)数据库,对桔梗-苦杏仁的作用靶标进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析和基因本体(GO)分类富集分析。结果:共筛选得到桔梗-苦杏仁的14个活性成分,包括acacetin, cis-dihydroquercetin, spinasterol, licochalcone B, luteolin等,和103个作用靶标,包括诱导型一氧化氮合酶蛋白(NOS2),环加氧酶1蛋白(PGCS1),雄激素受体(AR),环加氧酶2蛋白(PGCS2),二肽基肽酶4(DPP4)等,主要涉及prostate cancer, small cell lung cancer, hepatitis B, T cell receptor signaling pathway等信号通路。结论:该研究基于网络药理学的方法预测了桔梗-苦杏仁治疗肺癌的可能的作用机制,为后续的深入研究提供了方向。

[关键词] 桔梗; 苦杏仁; 肺癌; 网络药理学; 机制

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)19-0217-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201922

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200723.1133.014.html>

[网络出版日期] 2020-7-23 12:00

Molecular Mechanism of Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum in Treating Lung Carcinoma Based on Network Pharmacology

LIN Rui-ting¹, CHEN Zhi-qiang¹, LIN Li-zhu^{2*}

(1. First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China)

[Abstract] **Objective:** To screen out the active components of Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum, predict the targets and signaling pathways, construct the "multi-components, multi-targets and multi-pathways" interaction network and further investigate their molecular mechanism for the treatment of lung carcinoma based on network pharmacology. **Method:** Active components and corresponding targets of Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum were obtained through Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and literature consultation. Therapeutic targeted genes of Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum in the treatment of lung carcinoma were obtained from UniProt database and Genecards database. The "components-targets" network was constructed by using

[收稿日期] 20200101(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81573780)

[第一作者] 林瑞婷,在读硕士,从事中西医结合肿瘤临床研究,E-mail:353885651@qq.com

[通信作者] *林丽珠,博士,教授,主任中医师,博士研究生导师,从事中西医结合治疗恶性肿瘤研究,Email:linlizhu903@139.com

Cytoscape 3.6.0 software, and the protein-protein interactions network was constructed by String database and "Generate Style From Statistics" tool in Cytoscape software. Its molecular docking with active components of *Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum* was carried out by using Systems Dock Web Site network server. The Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) and Gene Ontology (GO) enrichment analysis on the therapeutic targets of *Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum* were performed with the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID). **Result:** Fourteen active components of *Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum* were screened out, including acacetin, cis-dihydroquercetin, spinasterol, licochalcone B, and luteolin, et al. One hundred and three therapeutic targets were screened out, including nitric oxide synthase 2 (NOS2), prostaglandin endoperoxide synthase 1 (PTGS1), androgen receptor (AR), prostaglandin endoperoxide synthase 2 (PTGS2), and dipeptidyl peptidase 4 (DPP4), et al. Identified signaling pathways mainly involved prostate cancer signaling pathway, small cell lung cancer signaling pathway, hepatitis B signaling pathway and T cell receptor signaling pathway. **Conclusion:** The possible molecular mechanism of *Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum* for the treatment of lung carcinoma was explored in this study based on network pharmacology, providing the direction for subsequent research.

[Key words] *Platycodonis Radix*; *Armeniacae Semen Amarum*; lung carcinoma; network pharmacology; mechanism

据《2018年全球癌症统计数据》报告^[1],截至目前为止,支气管肺癌(肺癌)发病率(11.6%),死亡率(18.4%)仍位居世界第一。特别是我国作为烟草消费大国,肺癌新发病例仍在持续增长,肺癌防治已成为全球重要公共健康问题。早期肺癌可以采用手术、放化疗等多种手段进行干预,但由于易耐药、易复发等特点,其5年生存率不足55%^[2]。在治疗肺癌上,单一治疗手段的效果在临床上并不令人满意。肿瘤综合治疗已经成为主流,综合合理地应用现有的各种治疗手段,包括化疗、放疗、靶向治疗、免疫治疗、手术等,以达到提高临床疗效、延长带瘤生存时间和提高生活质量的目的^[3]。中医药在此方面的作用日渐突显,已经成为肺癌辅助治疗的重要部分。中医药充分发挥辨证论治和整体观念的优势,在稳定瘤灶,减轻临床症状、增强免疫力、减毒增效、降低复发转移率、最大限度延长生存期和保障生活质量等诸多方面,均显示出一定的优势,成为近年来临床研究的热点^[4-5]。

中医学认为,肺癌发病,有痰、虚、毒、瘀等多种病因,而主要责之于痰。《黄帝内经》言:“诸气贖郁,皆属于肺^[6]。”肺气上逆,郁结不舒是肺癌的主要病机之一。气机不利则生痰,痰饮内停,积聚乃生。桔梗-苦杏仁是临床治疗肺癌的常用药对^[7]。其中桔梗辛散,长于开宣肺气而祛痰;苦杏仁苦降,擅肃降肺气而化痰。二者相须为用,一宣一降,疏理气机,肺之宣降功能得复。治痰先治气,气顺痰自清。故临证处方,无论何种证型,均可配伍桔梗、苦杏仁

宣降肺气。

现代药理学研究结果表明,桔梗-苦杏仁对肺癌细胞具有生长抑制及诱导凋亡作用,还有免疫调节、抑制肺癌细胞的浸润与迁徙等方面的作用^[8-9]。但针对其整体性抗肺癌的作用机制尚未报道,本文采用网络药理学的思路和方法,建立“成分-靶标-通路-疾病”网络,探讨桔梗-苦杏仁药对治疗肺癌的可能作用机制,期望可以为深入研究桔梗-苦杏仁和研发新型的治疗肺癌药物提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 药物活性成分和对应靶标的获取 在中药系统药理数据库和分析平台(TCMSP)数据库(version 2.3, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)分别以“桔梗”“苦杏仁”为关键词,检索获得其化学成分^[10]。再进行初步筛选,限定药物动力学参数,药物口服生物利用度(OB)≥30%,药物相似性(DL)≥0.18^[11],获得2种药物中复合筛选条件的化学成分信息,并以其作为二者的主要活性成分。同时在平台中获得各成分所对应的靶标。

1.2 活性成分预测靶标所对应基因的获取 通过Uniport数据库(<https://www.uniprot.org/>)检索桔梗、苦杏仁活性成分所对应预测靶标的蛋白名称,限定物种为“人(human)”,获取预测靶标相对应的基因名和对应的UNIPROTKB。

1.3 肺癌相关靶标基因的获取 在人类基因组注释数据库 Genecards 数据库(<https://www.genecards.org/>)中以“lung carcinoma”或“lung carcinomas”为关

关键词,选择 Category 为“Protein Coding”检索与肺癌相关靶标基因^[12]。将所得的相关靶标基因和桔梗、苦杏仁主要活性成分所对应的预测靶标基因录入 Excel 表格,通过 Excel 中的“SUMIF”函数,对桔梗、苦杏仁主要活性成分的预测靶标基因与肺癌相关靶标基因进行对比,筛选出其中的共同靶标基因,作为桔梗-苦杏仁治疗肺癌的潜在作用靶标。

1.4 成分-作用靶标网络构建与分析 剔除桔梗-苦杏仁中未能作用于肺癌相关靶标的活性成分后,将能够作用于相关靶标的活性成分与治疗肺癌的潜在作用靶标导入 Cytoscape 3.6.0 软件,从而构建成分-作用靶标网络。

1.5 核心靶标相互作用网络构建与分析 将桔梗-苦杏仁治疗肺癌潜在靶标基因导入 String 网络数据库 (<https://string-db.org/>),限定物种为“Homo sapiens”,检索获得靶标蛋白之间的相互作用关系,保存 TSV 格式文件^[13]。将 TSV 格式导入 Cytoscape 3.6.0 软件进行可视化,绘制蛋白相互作用网络图 (PPI)。再利用“Network Analyzer”插件分析网络拓扑性质的度 (degree),度越高,则对应节点越大,说明靶蛋白越重要。

1.6 分子对接 System Dock Web Site 网络服务器能实现分子对接,判断配体与受体的匹配度^[14]。为了验证“桔梗-苦杏仁”活性成分预测靶点的准确性,基于所得的蛋白相互作用网络,筛选 Degree 值排名前 5 的靶标,将其导入 System Dock Web Site 服务器 (<http://systemsdock.unit.oist.jp/iddp/home/index>) 中,与桔梗-苦杏仁的主要活性成分进行对接,基于对结果所显示 Docking Score 的分析,评估桔梗-苦杏仁的主要活性成分与核心靶标之间的结合活性。Score 值越大,结合越稳定。

1.7 靶点通路分析及其可视化 将“桔梗-苦杏仁”与肺癌的共同基因的 UNIPROTKB 导入功能注释生物信息学分析平台 (DAVID) 数据库^[15] (<https://david.ncifcrf.gov/>),进行京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析和基因本体论 (GO) 分类富集分析,保存结果。选取满足 $P < 0.01$ 的通路,并根据富集基因数量降序排序,选取富集基因数最多的 20 条通路,使用 OmicShare 网站 (<http://www.omicshare.com/>) 绘制高级气泡图。

1.8 成分-靶标-通路网络构建 对富集基因数最多的 20 条 KEGG 通路进行分析,并结合文献检索,筛选出可能与治疗肺癌相关的通路,找出桔梗-苦杏仁治疗肺癌富集在这些通路上的靶标,并与药物相应

的活性成分相匹配。结合上述三者,利用 Cytoscape 3.6.0 构建出“成分-靶标-通路”网络关系图。

2 结果

2.1 桔梗-苦杏仁活性成分与相应靶标 以 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 作为限定条件,筛选出活性成分 14 个,其中苦杏仁 4 个,桔梗 11 个,菠菜甾醇 (spinasterol) 是桔梗和苦杏仁中共有的活性成分,见表 1。同时在平台获取桔梗、苦杏仁主要活性成分的预测靶标,共 106 个。

表 1 桔梗-苦杏仁活性成分

Table 1 Active components in Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum

| No | HERB | NAME | OB/% | DL |
|----|------|--------------------------|-------|------|
| 1 | 桔梗 | acacetin | 34.97 | 0.24 |
| 2 | 桔梗 | spinasterol | 42.98 | 0.76 |
| 3 | 桔梗 | cis-dihydroquercetin | 66.44 | 0.27 |
| 4 | 桔梗 | luteolin | 36.16 | 0.25 |
| 5 | 苦杏仁 | estrone | 53.56 | 0.32 |
| 6 | 苦杏仁 | 11,14-eicosadienoic acid | 39.99 | 0.2 |
| 7 | 苦杏仁 | sitosterol | 36.91 | 0.75 |
| 8 | 苦杏仁 | gondoic acid | 43.83 | 0.76 |
| 9 | 苦杏仁 | CLR | 30.7 | 0.2 |
| 10 | 苦杏仁 | mairin | 37.87 | 0.68 |
| 11 | 苦杏仁 | (+)-catechin | 55.38 | 0.78 |
| 12 | 苦杏仁 | glycyrol | 54.83 | 0.24 |
| 13 | 苦杏仁 | spinasterol | 90.78 | 0.67 |
| 14 | 苦杏仁 | licochalcone B | 66.95 | 0.62 |
| 15 | 苦杏仁 | liquiritin | 42.98 | 0.76 |

2.2 靶标预测 在 Uniprot 数据库中输入蛋白靶标,获得 106 个预测靶标的相应基因。将所得的靶标基因与 GeneCards 数据库中搜索得到的肺癌相关基因作进行对比,筛选出可能与肺癌有关的作用靶标 103 个,见图 1,表 2。使用 omicshare 平台 (<http://www.omicshare.com/>) 将药物靶蛋白和肺癌靶点相映射,并绘制 Venn 图。

2.3 成分-靶标网络构建 在 Cytoscape 软件中导入桔梗-苦杏仁的活性成分与作用靶标,构建成分-靶标网络,见图 2。此网络共包括节点 122 个,边 187 条。不同的靶标可对应相同的活性成分,同一靶标也可与不同的活性成分相对应,可见桔梗-苦杏仁治疗肺癌具有多成分、多靶标的特点。蛋白激酶 1 (Akt1),肿瘤抑制蛋白 53 (TP53),血管内皮生长因子 A (VEGFA),白细胞介素-6 (IL-6),丝裂原活化蛋

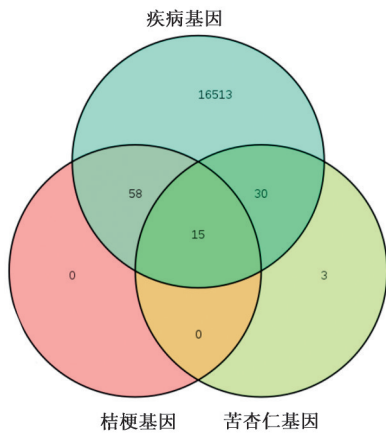


图1 肺癌靶标与桔梗-苦杏仁靶标的匹配

Fig. 1 Matching of lung carcinoma targets and Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum targets

白激酶1(MAPK1),皮生长因子受体(EGFR),JUN,半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)-3,肿瘤坏死因子(TNF),癌基因(CCND1),环加氧酶(PTGS)2,酪氨酸激酶受体2(ErbB2),6号染色体的基因(ESR1),B淋巴细胞瘤-2基因家族成员(Bcl-2L1),基质金属蛋白酶(MMP)9,雄激素受体(AR),Caspase-8,MAPK14的Degree值在中位数22的2倍以上,表明以上蛋白在网络中的具有一定的重要性。其中,Akt1,TP53的Degree值在中位数22的3倍以上,表明这2种蛋白质在网络中具有不可替代的重要性。

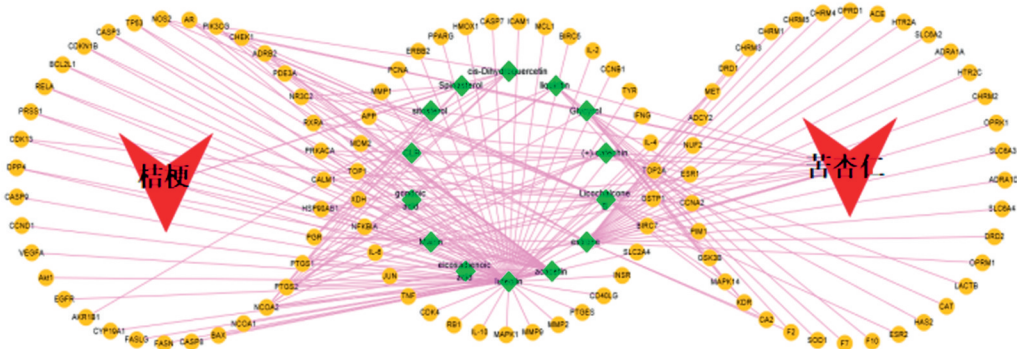
2.4 核心靶标相互作用网络构建 将“桔梗”“苦杏仁”可能与肺癌相关的103个靶标导入string数据库中,获取其相互作用关系,经Cytoscape 3.6.0软件可视化,得到蛋白与蛋白之间相互作用PPI网络,蛋白互作网络图见图3。此网络共包括节点103个,边1330条。结果提示桔梗-苦杏仁治疗肺癌的靶标中Degree最高的5个靶点为包括Akt1,TP53,VEGFA,

IL-6,MAPK1。

2.5 分子对接 选取degree值最大的5个靶标,将其PDB ID分别输入Systems Dock Web Site软件中,进行分子对接验证,并桔梗、苦杏仁的14个活性成分进行对接(见图4)。结果显示,活性成分和关键靶标均存在不同程度的结合,有10个结合(14.29%)的Docking Score值>7.0(结合能力很高),有25个结合(35.71%)在7.0~5.0(结合能力较高),有21个结合(30%)在5.0~4.25(有一定的结合能力),有14个(20%)<4.25。由此可见,桔梗、苦杏仁的活性成分和关键靶标的结合能力较良好,这也从侧面印证了本研究预测结果的可靠性。

2.6 GO和KEGG通路富集分析 利用DAVID数据库,对桔梗-苦杏仁的活性成分的对靶标进行GO富集分析和KEGG通路富集分析,通过Omishare平台将分析结果转化为高级气泡图。通过GO功能富集分析发现,预测靶点在生物过程(BP)分析中富集基因数量较大的有axon terminus, caveola, membrane raft等,见图5。提示肺癌的产生,涉及多种生物过程的异常,而桔梗-苦杏仁可以通过对以上生物过程的调节,达到治疗肺癌的作用。KEGG通路富集分析发现,见图6。桔梗-苦杏仁治疗肺癌的靶标主要与prostate cancer, small cell lung cancer, hepatitis B, T cell receptor signaling pathway, chagas disease(American trypanosomiasis)等通路关系较为密切。以上结果表明桔梗-苦杏仁可通过各通路协同发挥作用。

2.7 “成分-靶标-通路”网络的构建与分析 将桔梗-苦杏仁的活性成分、预测靶标,以及根据KEGG通路富集分析结果所筛选出来的通路导入Cytoscape 3.6.0软件,绘制“成分-靶标-通路”网络图,直观体现三者之间的关系,见图7。图中共有节



红色类三角形.药物;绿色四边形节点.活性成分;黄色圆形节点.作用靶标;粉色连接线.成分与靶标的关系

图2 桔梗-苦杏仁成分-靶标网络

Fig. 2 Component-target network of Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum

表2 桔梗-苦杏仁潜在作用靶标信息

Table 2 Information of candidate targets of *Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum*

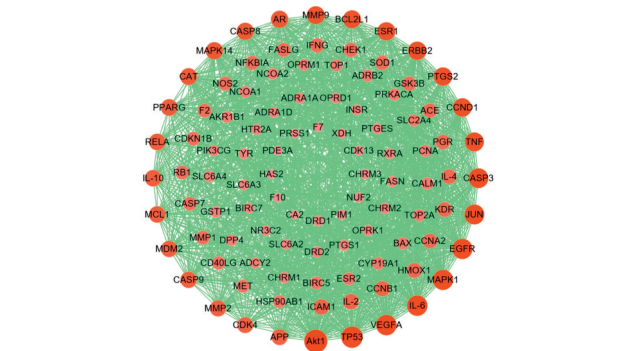
| No. | GENE | UNIPROTKB | No. | GENE | UNIPROTKB | No. | GENE | UNIPROTKB |
|-----|----------|-----------|-----|--------|-----------|-----|--------|-----------|
| 1 | NOS2 | P35228 | 36 | MMP2 | P08253 | 71 | NUF2 | Q9BZD4 |
| 2 | PTGS1 | P23219 | 37 | MMP9 | P14780 | 72 | ADCY2 | ADCY2 |
| 3 | AR | P10275 | 38 | MAPK1 | P28482 | 73 | MET | P08581 |
| 4 | PTGS2 | P35354 | 39 | IL-10 | P22301 | 74 | DRD1 | P21728 |
| 5 | DPP4 | P27487 | 40 | RB1 | P06400 | 75 | CHRM3 | P20309 |
| 6 | HSP90AB1 | P08238 | 41 | CDK4 | P11802 | 76 | F2 | P00734 |
| 7 | CDK13 | Q14004 | 42 | TNF | P01375 | 77 | CHRM1 | P11229 |
| 8 | PRKACA | P17612 | 43 | JUN | P05412 | 78 | CA2 | P00918 |
| 9 | PRSS1 | P07477 | 44 | IL-6 | P05231 | 79 | OPRD1 | P41143 |
| 10 | NCOA2 | Q15596 | 45 | NFKBIA | P25963 | 80 | ACE | P07140 |
| 11 | NCOA1 | Q15788 | 46 | XDH | P47989 | 81 | HTR2A | P28223 |
| 12 | CALM1 | P0DP23 | 47 | TOP1 | P11387 | 82 | SLC6A2 | P23975 |
| 13 | PIK3CG | P48736 | 48 | MDM2 | Q00987 | 83 | ADRA1A | P35348 |
| 14 | CHEK1 | O14757 | 49 | APP | P05067 | 84 | CHRM2 | P08172 |
| 15 | ADRB2 | P07550 | 50 | MMP1 | P03956 | 85 | OPRK1 | P41145 |
| 16 | PDE3A | Q14432 | 51 | PCNA | P12004 | 86 | SLC6A3 | Q01959 |
| 17 | RELA | Q04206 | 52 | ERBB2 | P04626 | 87 | ADRA1D | P25100 |
| 18 | CDKN1B | P46527 | 53 | PPARG | P37231 | 88 | SLC6A4 | P31645 |
| 19 | BAX | Q07812 | 54 | HMOX1 | P09601 | 89 | DRD2 | P14416 |
| 20 | CASP3 | P42574 | 55 | CASP7 | P55210 | 90 | OPRM1 | P35372 |
| 21 | TP53 | P04637 | 56 | ICAM1 | P05362 | 91 | ESR1 | P03372 |
| 22 | CASP8 | Q14790 | 57 | MCL1 | Q07820 | 92 | LACTB | P83111 |
| 23 | FASN | P49327 | 58 | BIRC5 | O15392 | 93 | CAT | P04040 |
| 24 | FASLG | P48023 | 59 | IL-2 | P60568 | 94 | HAS2 | Q92819 |
| 25 | CYP19A1 | Q45RG7 | 60 | CCNB1 | P14635 | 95 | KDR | P35968 |
| 26 | PGR | P06401 | 61 | TYR | P14679 | 96 | MAPK14 | Q16539 |
| 27 | NR3C2 | P08235 | 62 | IFNG | P01579 | 97 | GSK3B | P49841 |
| 28 | RXRA | P19793 | 63 | IL-4 | P05112 | 98 | PIM1 | P11309 |
| 29 | AKR1B1 | P15121 | 64 | TOP2A | P11388 | 99 | CCNA2 | P20248 |
| 30 | EGFR | P00533 | 65 | GSTP1 | GSTP1 | 100 | ESR2 | Q92731 |
| 31 | Akt1 | P31749 | 66 | BIRC7 | Q96CA5 | 101 | F10 | P00742 |
| 32 | VEGFA | P15692 | 67 | SLC2A4 | P14672 | 102 | F7 | P08709 |
| 33 | CCND1 | P24385 | 68 | INSR | P06213 | 103 | SOD1 | P00441 |
| 34 | BCL2L1 | Q07817 | 69 | CD40LG | P29965 | | | |
| 35 | CASP9 | P55211 | 70 | PTGES | O14684 | | | |

点81个,边线213条。这直观地体现了药物治疗疾病的过程涉及多成分、多靶标、多通路,作用机制复杂多样,符合中药治疗疾病的特点。

3 讨论

中医学理论当中,肺主宣发肃降。肺脏宣发与肃降的两种生理功能相互协调。宣降正常,则肺气

升降出入通畅,呼吸调匀;若宣降失常,则“肺气不宣”或“肺失肃降”。桔梗,味辛主散,力专开宣肺气;苦杏仁味苦主降,功善肃降肺气。二者相合,一辛一苦,一宣一降,是宣降肺气,畅通气机的常用组合。因此,桔梗-苦杏仁已被广泛运用于肺癌及肺癌转移的临床治疗,但目前其具体分子作用机制尚不



红色节点代表靶蛋白,绿色边代表靶蛋白之间的相互作用, Degree 越大则节点越大、颜色越深

图3 核心靶标相互作用网络

Fig. 3 Core targets interaction network

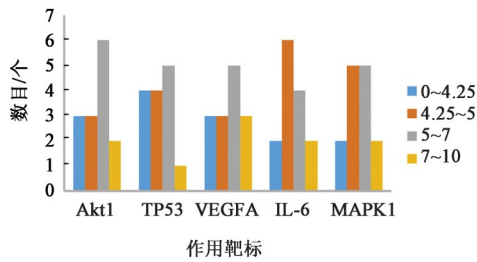


图4 分子对接

Fig. 4 Diagram of molecular docking

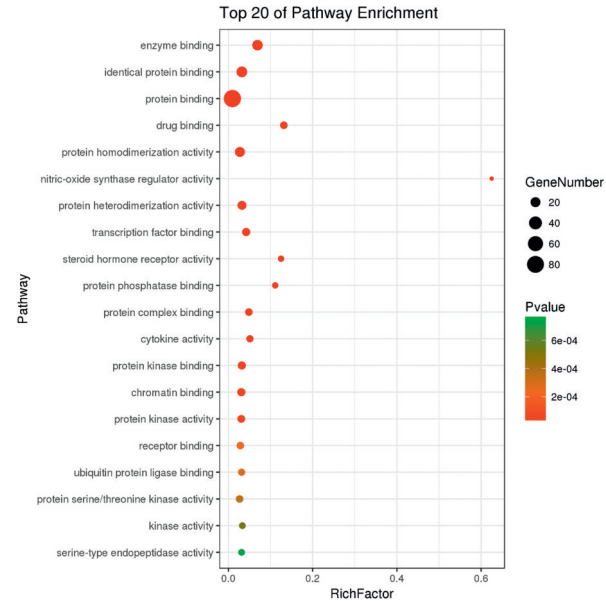


图5 桔梗-苦杏仁活性成分对应靶标的BP分析

Fig. 5 BP analysis for corresponding targets from active components of Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum

明确^[16-17]。基于网络药理学的分析方法探究桔梗-苦杏仁治疗肺癌的分子作用机制,有利于临床推广以及深入的研究。

对本研究所收集的主要活性成分进行分析,发现多数黄酮类化合物如刺槐黄素(acacetin),顺式-

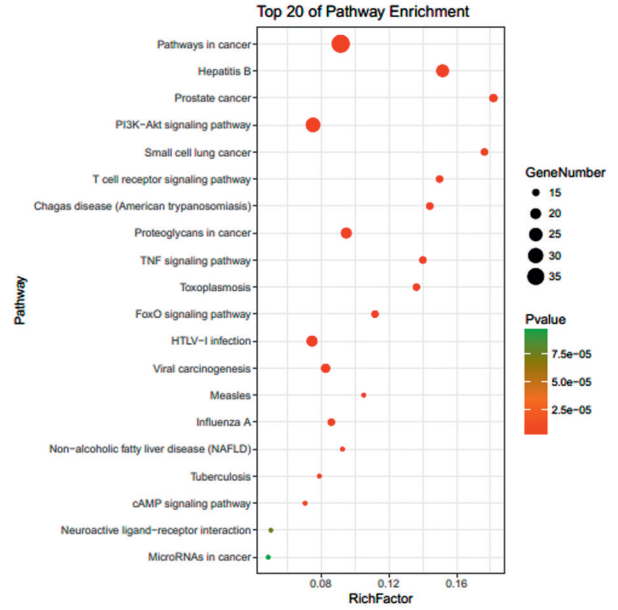
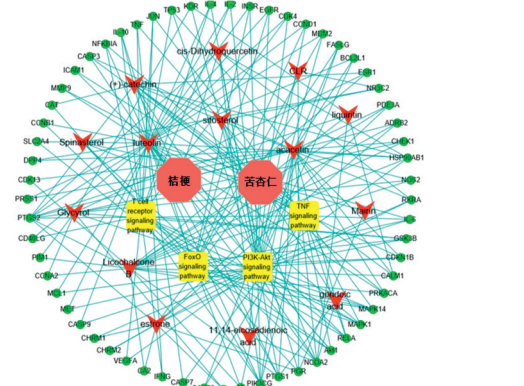


图6 桔梗-苦杏仁活性成分对应靶标的KEGG通路富集分析

Fig. 6 KEGG pathway enrichment analysis of corresponding targets from active components of Platycodonis Radix-Armeniacae Semen Amarum



粉红色八边形:药物;红色类三角形:活性成分;绿色圆形节点:作用靶标;黄色正方形节点:桔梗-苦杏仁治疗肺癌所涉及的主要通路;蓝色边线:成分、靶、通路之间的相互关联

图7 “成分-靶标-通路”网络关系

Fig. 7 "Components-targets-pathways" network

二氢槲皮素(cis-dihydroquercetin), 菠菜甾醇(spinasterol), 甘草查尔酮乙(licochalcone B), 木犀草素(luteolin)等均在抗肺癌中发挥重要作用,与现有的药理研究结果相符。研究表明,黄酮类化合物主要是通过诱调控细胞凋亡、干扰信号转导、抑制癌细胞侵袭和迁移、抗血管形成等机制发挥抗肺癌的作用^[18-19]。刺槐黄素能抑制人体非小细胞肺癌A549细胞黏附、侵袭和迁移的能力^[20-21]。槲皮素可竞争性抑制MMP9,同时减少肺癌表达A549细胞MMP9和TGF- β_1 蛋白,从而减弱癌细胞穿过人工基底膜的能力^[22]。另外,结果显示部分非黄酮类化合

物如 β -谷甾醇(sitosterol),儿茶素[(+)-catechin],甘草醇(glycyrol)等在抗肺癌方面同样具有药理活性。RAJAVEL等^[23]的研究表明,一定浓度的 β -谷甾醇可通过阻滞肺癌A549细胞于G₂/M期,从而阻碍细胞增殖,诱导细胞凋亡。

本研究中的“成分-靶标”网络和靶标相互作用网络提示了Akt1,TP53在网络中具有不可替代的重要性。Akt1基因的扩增多发生在肿瘤早期。万军等^[24]采用免疫组化,发现肺癌中高水平表达的Akt1,与癌细胞的分化程度、是否存在淋巴转移和TNM分期存在相关性,可为肺癌的诊疗及其预后提供参考。TP53是近年来抗癌研究的热点,具有调控细胞周期、诱导细胞凋亡及影响新血管产生等作用。TP53与肺癌的生物学行为存在相关性,其基因突变会增加患癌风险并且促进肺癌的发生发展^[25]。

分子对接实验结果显示了桔梗-苦杏仁的活性成分和关键靶标之间结合能力良好,提示本研究的数据与结果较为可靠,具有较高的参考价值。

另外,分析收集得到的20条通路,结合文献筛选得到KEGG富集的4条通路。结果表明桔梗-苦杏仁治疗肺癌主要与PI3K/Akt,TNF,FOXO,T cell receptor等通路关系较为密切。①PI3K/Akt通路,是抗癌治疗研究的热点之一,在肺癌细胞的增殖、生长、侵袭和转移等方面起着重要作用。大量研究显示,microRNA可调控PI3K/Akt信号通路的信号转导,从而抑制细胞的侵袭、调节细胞周期阻滞^[26-27]。同时,在肺癌细胞的化疗耐药的发生机制中,PI3K/Akt通路同样起着重要的作用,因此临床上利用针对PI3K/Akt通路设计的抗癌药物如PI3K抑制剂联合化疗的方式来克服治疗耐药^[28];②TNF通路,TNF- α 是肿瘤微环境中一种关键的炎症细胞因子。相关的TNF- α /NF- κ B研究显示,TNF- α 的抗癌机制主要是通过阻碍癌细胞生长,促使癌细胞凋亡^[29-30]。③FOXO通路,抑癌因子FOXO可与其他抑癌因子发生相互作用,共同发挥调控细胞周期、诱导细胞凋亡和自噬等功能。相关研究表明,大部分肺癌患者存在着FOXO信号通路的异常^[31-32]。FOXO能够参与激活PI3K/Akt或RAS/ERK等与癌细胞存活相关的信号通路^[33]。相关信号通路被激活后,可通过磷酸化FOXO不同位点对FOXO降解或核定位进行调控^[34]。LIU等^[35]对肺癌的研究表明FOXO3a可介导紫杉醇的细胞毒作用。④T细胞受体通路,与癌症的研究主要集中在辅助性T细胞17(Th17)。Th17细胞的效应分子主要是细胞因子IL-17。

NUMASAKI等^[36]的研究表明,IL-17通过促进促血管生成因子的生成,诱导血管形成而使病灶增大。另有实验显示,IL-17能够增强肺癌细胞的侵袭及转移能力,其作用机制是激活NF- κ B/ZEB1信号通路,诱发癌细胞上皮间质的转化^[37]。

综上所述,本研究预测了桔梗-苦杏仁的药理作用和相关机制,为开展深入研究提供参考价值。同时,相互网络关系中多成分、多靶点、多途径的特点体现了中医治疗的整体观念。

[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] 张诗博,赵蔚,徐世东.肺癌晚期免疫综合治疗的研究进展[J].癌症进展,2018,16(2):144-146,174.
- [3] CHEN W, ZHENG R, ZHANG S, et al. Annual report on status of cancer in China, 2010 [J]. Chin J Cancer Res, 2014, 26(1): 48-58.
- [4] 王保芹,王心恒,李泽庚.中医药治疗肺癌研究进展[J].中医学报,2018,33(3):371-374.
- [5] GOSS P E, STRASSERWEIPPL K, LEEBYCHKOVSKY B L, et al. Challenges to effective cancer control in China, India, and Russia [J]. Lancet Oncol, 2014, 15(5): 489-538.
- [6] 关念波,刘浩,林洪生.肺癌中医药治疗的研究进展及展望[J].临床肿瘤学杂志,2013,18(3):264-267.
- [7] 孙玲玲,陶文慧.林丽珠治疗肺癌用药规律分析[J].中医学报,2015,30(1):17-19.
- [8] QIAN L, XIE B, WANG Y, et al. Amygdalin-mediated inhibition of non-small cell lung cancer cell invasion *in vitro* [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(5): 5363-5370.
- [9] XIE Y, DENG W, SUN H, et al. Platycodin D2 is a potential less hemolytic saponin adjuvant eliciting Th1 and Th2 immune responses [J]. Int Immunopharmacol, 2008, 8(8): 1143-1150.
- [10] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminf, 2014, 6(1): 1-6.
- [11] WALTERS W P, MURCKO M A. Prediction of 'drug-likeness' [J]. Adv Drug Delivery Rev, 2002, 54(3): 255-271.
- [12] FISHILEVICH S, ZIMMERMAN S, KOHN A, et al. Genic insights from integrated human proteomics

- in GeneCards [J]. Database, 2016, 2016:baw030.
- [13] SZKLARCZYK D, MORRIS J H, COOK H, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45 (1) : 362-368.
- [14] HSIN K Y, MATSUOKA Y, ASAI Y, et al. SystemsDock: a web server for network pharmacology-based prediction and analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(W1): 507-513.
- [15] DENNIS G, SHERMAN B T, HOSACK D A, et al. DAVID: database for annotation, visualization, and integrated discovery [J]. *Genome Biol*, 2003, 4 (5): 3.
- [16] 冯解语, 罗斌, 董昌盛, 等. 田建辉治疗肺癌转移的用药规律[J]. *湖北中医药大学学报*, 2017, 19(3): 101-106.
- [17] 卢茵茵, 庄逸洋, 黄楚栓, 等. 林丽珠治疗肺癌用药规律的数据挖掘研究[J]. *中医杂志*, 2016, 57(18): 1557-1559, 1564.
- [18] 石元英, 徐勤. 黄酮类化合物抗肿瘤作用机制的研究与靶向治疗策略[J]. *华夏医学*, 2017, 30(2): 164-168.
- [19] NAGAPPAN A, LEE H, SARALAMMA V, et al. Flavonoids isolated from induced G₂/M cell cycle arrest and apoptosis in A549 human lung cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(2): 1394-1402.
- [20] 马纳, 李亚静, 范吉平. 金合欢素药理研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2018, 35(10): 1591-1595.
- [21] CHIEN S T, LIN S S, WANG C K, et al. Acacetin inhibits the invasion and migration of human non-small cell lung cancer A549 cells by suppressing the p38 α MAPK signaling pathway [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 350(1/2): 135-148.
- [22] 李聪, 胡强, 张燕翔, 等. 槲皮素的药理学活性研究进展[J]. *湖北中医杂志*, 2018, 40(6): 63-66.
- [23] RAJAVEL T, MOHANKUMAR R, ARCHUNAN G, et al. Beta sitosterol and Daucosterol (phytosterols identified in *Grewia tiliaefolia*) perturbs cell cycle and induces apoptotic cell death in A549 cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3418.
- [24] 万军, 车云, 康宁宇. 信号通路蛋白Akt1、ERK1/2与HIF-1 α 在肺癌组织中的表达及其临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2014, 29(12): 1515-1517, 1521.
- [25] DEB S P, DEB S. Mutant p53 and MDM2 in cancer volume 85. Lung cancer stem cells, p53 mutations and MDM2 [J]. *Subcell Biochem*, 2014, 85 (19) : 359-370.
- [26] WU H, LIU H Y, LIU W J, et al. miR - 377 - 5p inhibits lung cancer cell proliferation, invasion, and cell cycle progression by targeting Akt1 signaling [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(5): 8120-8128.
- [27] LI S, MA Y, HOU X, et al. MiR-185 acts as a tumor suppressor by targeting Akt1 in non-small cell lung cancer cells [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9) : 11854-11862.
- [28] 吴爱兵, 黎明春, 麦宗炯, 等. CK2 α 通过PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路调控肺腺癌A549细胞的侵袭及迁移[J]. *中国肺癌杂志*, 2017, 20(4): 233-238.
- [29] DE SIMONE V, FRANZÈ, E, RONCHETTI G, et al. Th17-type cytokines, IL-6 and TNF- α synergistically activate STAT3 and NF- κ B to promote colorectal cancer cell growth [J]. *Oncogene*, 2015, 34(27): 3493-3503.
- [30] JIN L, WESSELY O, MARCUSSEON E G, et al. Prooncogenic factors miR-23b and miR-27b are regulated by Her2/Neu, EGF, and TNF-A in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(9): 2884-2896.
- [31] MIKSE O R, BLAKE D C, JONES N R, et al. FOXO3 encodes a carcinogen-activated transcription factor frequently deleted in early-stage lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Res*, 2010, 70 (15) : 6205-6215.
- [32] YU Z, JU Y, LIU H. Antilung cancer effect of glucosamine by suppressing the phosphorylation of FOXO [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(3): 3395-3400.
- [33] CARBAJO-PESCADOR S, MAURIZ J L, GARCÍA-PALOMO A, et al. FoxO proteins: regulation and molecular targets in liver cancer [J]. *Curr Med Chem*, 2014, 21(10): 1231-1246.
- [34] 杨明建, 于振涛. FOXO的调控与肿瘤治疗关系的研究进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2015, 42(18): 926-929.
- [35] LIU H, YIN J, WANG C, et al. FOXO3a mediates the cytotoxic effects of cisplatin in lung cancer cells [J]. *Anticancer Drugs*, 2014, 25(8): 898-907.
- [36] NUMASAKI M, WATANABE M, SUZUKI T, et al. IL-17 enhances the net angiogenic activity and in vivo growth of human non-small cell lung cancer in SCID mice through promoting CXCR-2-dependent angiogenesis [J]. *J Immunol*, 2005, 175(9) : 6177-6189.
- [37] GU K, LI M M, SHEN J, et al. Interleukin-17-induced EMT promotes lung cancer cell migration and invasion via NF- κ B/ZEB1 signal pathway [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(3): 1169-1179.

[责任编辑 张丰丰]