

基于网络药理学探讨黄精-百合药对抗癌作用的机制

余婷, 杨柱, 龙奉玺, 吴文字, 王佳, 伍谨林, 唐东昕*
(贵州中医药大学 贵州省中医肿瘤传承与科技创新人才基地, 贵阳 550002)

[摘要] **目的:** 通过网络药理学的方法筛选黄精-百合药对中的有效成分, 预测治疗癌症的作用靶点及信号通路, 进一步探讨潜在作用机制。**方法:** 使用全称为中药系统药理学分析平台筛选黄精-百合药对中的活性成分和靶点, 通过基因疾病关联数据库 (DisGeNET) 与人类孟德尔遗传数据库 (OMIM) 预测与筛选药对中有有效的中药成分作用的疾病靶点。选择生物信息分析学习平台 (Omicshare) 匹配药物和疾病的靶点, 借助复杂网络可视化平台 (Cytoscape3. 7. 0) 软件构建“药物-成分-疾病”网络。采用蛋白质相互作用网络数据库 (String) 构建黄精-百合药对治疗癌症的靶点相互作用的网络。最后通过功能注释生物信息学分析平台 (DAVID) 对黄精-百合药对中关键作用的节点进行生物功能及代谢通路分析。**结果:** 筛选出 19 个黄精-百合药对的活性成分, 根据靶点预测技术预测出相关靶点 234 个, 与疾病靶点有关的活性成分为 6 个, 主要通过调控丝氨酸 (Akt)/苏氨酸激酶 1 (Akt1), Jun 原癌基因, AP-1 转录因子亚基 (JUN), 血管内皮生长因子 A (VEGFA), 基质金属蛋白酶-9 (MMP-9), 半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 等靶蛋白, 以及癌症中的蛋白多糖, 雌激素信号转导通路, 人免疫缺陷病毒 1 感染, 缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 信号通路, 肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路, 癌症中的微型核糖核酸 (MicroRNAs) 等通路发挥抗癌作用。**结论:** 黄精-百合药对治疗癌症的作用体现了中药多成分-多靶点-多途径的特点, 为阐释其抗癌治疗的作用机制与物质基础提供了科学依据。

[关键词] 黄精-百合; 癌症; 网络药理学; 分子机制

[中图分类号] R22; R242; R2-031; R285. 5; R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2020)05-0168-10

[doi] 10. 13422/j. cnki. syfjx. 20192123

[网络出版地址] <http://kns. cnki. net/kcms/detail/11. 3495. R. 20190717. 0926. 002. html>

[网络出版时间] 2019-07-17 16:28

Anti-cancer Mechanism of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus Based on Network Pharmacology

YU Ting, YANG Zhu, LONG Feng-xi, WU Wen-yu, WANG Jia, WU Jin-lin, TANG Dong-xin*
(*Tumor Inheritance and Scientific and Technological Innovation Talents Base of Traditional Chinese Medicine (TCM) in Guizhou Province, Guizhou University of TCM, Guiyang 550002, China*)

[Abstract] **Objective:** To screen out active ingredients of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus, and predict the targets and signaling pathways, in order to explore the potential mechanism in treatment of cancer by using network pharmacology. **Method:** All of active ingredients and targets of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus were screened out through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). Disease targets for cancer were collected through databases of gene-disease associations (DisGeNET) and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Then the Omicshare platform was used to match the active ingredients and the targets for treating cancer. And the "drug-active ingredients-disease targets" network was

[收稿日期] 20190418(002)

[基金项目] 国家自然科学基金地区科学基金项目(81760814);贵州省研究生工作站建设任务项目(黔教研合JYSZ字[2014]018);贵州省高层次创新型人才培养项目(黔科合人才(2016)4032号);贵州省第六批人才基地项目(黔人领发[2018]3号);贵州省研究生导师工作室建设任务项目(黔教研合GZS字[2016]08)

[第一作者] 余婷,在读硕士,从事中医药防治肿瘤的基础及临床研究,E-mail:564442094@qq.com

[通信作者] *唐东昕,博士,教授,从事中医药(民族医药)防治肿瘤的基础与临床研究,E-mail:tangdongxin@sina.com

established using Cytoscape 3.7.0 software. The functional protein association networks (String) database was used to construct the protein interaction network of drug pair targets for treating cancer. Finally, the Functional Annotation Bioinformatics Microarray Analysis (DAVID) database was used to analyze the biological functions and metabolic pathways of key targets. **Result:** A total of 19 active ingredients were screened out, 234 targets were predicted, 6 active ingredients were identified to be related to cancer. The anti-cancer effect was mainly correlated with the regulation of target proteins in treating cancer, such as Akt serine/threonine kinase 1 (Akt1), Jun proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit (JUN), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), Caspase-3, Fos proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit (FOS), proteoglycans in cancer, estrogen signaling pathway, human immunodeficiency virus 1 infection, hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) signaling pathway, tumor necrosis factor (TNF) signaling pathway, microRNAs in cancer and other pathways. **Conclusion:** The anti-cancer effect of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus reflects multi-component, multi-target, multi-pathway characteristics of TCM, and provides a scientific basis for explaining the mechanism and material basis of anti-cancer treatment.

[Key words] Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus; cancer; network pharmacology; molecular mechanism

癌症严重威胁人类的身体健康。据 WHO 公布的最新统计数据表明,亚洲的癌症的新发病例占据全球的一半^[1]。我国癌症统计数据显示,全国癌症新发病例数为 380.4 万例,死亡病例 229.6 万例^[2]。我国是世界上重要的人口大国,也是癌症高发的国家,因此新发病例数将近占据 20% 以上,每天有 1 万人诊断为癌症,每 1 min 有 7 个人会得癌症。癌症现今的治疗形势依然不容乐观,死亡率仍是居高不下,唯有提升患者的生存质量,进一步延长存活的时间。中药对放化疗的减毒增效是当今治疗癌症的最佳助力,中医药治疗肿瘤已经逐渐形成了自身的特色和方式^[3]。最大的优势在于可以有效配合肿瘤术后、放化疗后的患者,减轻毒副作用,抑制瘤体的增大,减少不良反应的发生,利于改善患者对肿瘤治疗的耐受能力。本研究的前期研究主要基于数据挖掘分析国医大师刘尚义教授经验方甲木二草汤,除运用鳖甲、莪术等消癥散结之品,冬凌草、猫爪草等清热解毒之品以外,辨证论治运用黄精、百合等药物配伍治疗多种癌症,可以起到增强体质,提升免疫力的作用,共奏益气、养阴、除烦之功,常用于治疗肺癌^[4]。近年来抗癌药物的筛选已成为医学界关注的热点,发掘更多潜在的活性成分是一种必然的趋势。

中药黄精隶属于百合科属,药用部位主要是干燥的根茎。2015 年版《中国药典》载其性味甘、平,具有健脾益肾润肺、益气滋阴的作用。现代药理学证明黄精具有降血糖、抗衰老、提高记忆力、抗抑郁、抗肿瘤等多重药理作用,含有黄精多糖、甾体皂苷、黄酮等多种化学成分^[5]。抗肿瘤方面,所含成分

黄精多糖可抑制肿瘤细胞增殖,从而诱导多种肿瘤细胞的凋亡,同时甾体皂苷也具备对抗肿瘤的潜力^[6]。中药百合首见于《神农本草经》,百合科百合属多年生草本球根植物,种植遍布于全球各地,具有润肺养阴、清心安神等功效。现代药理学研究表明百合具有抗炎、镇静、抗抑郁、降血糖等多重药理作用,含有多糖、甾醇、甾体皂苷及生物碱等多种化学成分。多糖可增强肿瘤细胞的免疫力来发挥抗肿瘤的作用,百合甾体皂苷元也具有良好的抗肿瘤效果。此外,百合生物碱及甲醇也能抑制人肺癌细胞 A549 体外增殖^[7-8]。《奇效良方》论述:“治劳嗽久咳,可配天冬、地黄、百合等同用。”食疗百合黄精粥也可用于脾胃虚弱、体倦无力、干咳无痰及咯血的患者,取其滋阴润肺益气之功^[9]。2 味中药药食同源,同属于百合科植物,性味相近、归经相似,均具有抗抑郁、降血糖、抗肿瘤的功效,合用优势互补,协同增强疗效,其具体抗癌机制有待进一步研究。国医大师刘尚义还认为癌症患者手术及放化疗后应属“阴虚于内,阳显于外”,兼顾副作用形成的虚劳体质,强调癌症的预后重在滋阴益气,调补肝肾,以提高免疫力,抑制瘤体,减毒增效^[10],且多有情志抑郁和心烦失眠,注重患者的情绪变化随证加减,灵活组方,以促进病体的综合康复。临床上运用的抗肿瘤复方中,黄精、百合的配伍用于治疗肺癌、肝癌等疾病^[11]。

网络药理学是基于系统生物学的理论,对药物的有效成分进行多靶点、多途径的生物系统网络图分析^[12]。从中医学的角度认识中药成分对应靶点映射疾病基因,寻找起到治疗作用的关键路径。本

研究运用网络药理学的方法筛选黄精、百合中的有效化学成分,预测与癌症相关的靶点与信号通路,并构建药物-成分-靶点的网络分析图,进一步分析黄精-百合药对抗癌作用的关键机制。

1 材料及方法

1.1 黄精-百合化学成分的收集 通过中药系统药理学数据库平台 (TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)^[13] 检索黄精、百合 2 味药物的所有的化学成分及靶点。根据药代动力学预测,吸收、分布、代谢和排泄的特性被认为是中药有效性的评价指标。主要包括口服生物利用度 (OB),小肠上皮细胞的渗透性 (Caco-2) 和类药性 (DL) 的评估。再检索 TCMSP 平台中的药物成分后设置阈值,通过以上标准筛选符合标准的有效成分。设定过滤器,调整药物成分口服生物利用度 ($OB \geq 30\%$) 和类药性 ($DL \geq 0.18$)^[14] 分别筛选出黄精-百合药对中符合需求的化合物以备用。

1.2 黄精与百合药物成分靶点的收集 采用 TCMSP 数据库检索黄精及百合药对中的所有靶蛋白,并通过蛋白质数据库 (Uniprot)^[15] (<http://www.uniprot.org/>) 将收集到的靶点蛋白名字转换为基因的 ID 名称。

1.3 癌症的疾病靶点收集 通过人类孟德尔遗传数据库 OMIM (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) 和 DisGeNET (<http://www.disgenet.org/>) 数据库,分别检索 2 大数据库中与癌症相关的靶基因,然后去重合并所有获得的基因数据,最后使用 Omicshare 平台 (<http://www.omicshare.com/>) 将黄精、百合药物中有效成分对应的靶点和癌症的靶点进行匹配重合^[16],绘制韦恩图获得黄精-百合活性成分的具有抗癌作用的关键靶点。

1.4 药物-成分-疾病靶点网络图构建 根据收集到的黄精-百合的活性成分,以及所有的靶点基因,两大数据库中的癌症相关的靶标基因共同映射。运用 Cytoscape 软件 (Version 3.7.0, <http://www.cytoscape.org>) 构建药物-成分-疾病靶点基因的网络关系图^[17]。通过网络图展示黄精-百合药对活性成分与疾病及抗癌靶点间相互作用的关系。

1.5 靶蛋白互相作用网络图构建 采用 STRING 数据库 (Version 10.5 <https://string-db.org/>), 将黄精-百合的对应靶点导入 String 数据库,设置物种为人类,获得蛋白互作关系,将结果以 TSV 格式导出^[18]。将所得数据导入 Cytoscape 软件进行可视化,绘制蛋白相互作用的网络图,设置网络中节点大

小和颜色深浅反映 Degree 值大小。利用 (<https://www.r-project.org/>) 软件平台绘制蛋白质相互作用网络 (PPI) 可视化柱状图,根据蛋白互作的关系依次排列出前 30 位的核心靶蛋白基因。

1.6 生物功能注释 (GO) 基因分析与基因组百科全书 (KEGG) 代谢通路富集分析 将关键靶点基因输入 DAVID 数据库功能注释工具中 ([https://david.ncicrf.gov/Version 6.8](https://david.ncicrf.gov/Version%206.8)), 进行 GO 基因富集分析和 KEGG 代谢通路分析,分析黄精-百合药对主要分子生物过程及信号通路^[19]。GO 富集分析的结果以柱状图及气泡图形式进行可视化展示,KEGG 通路富集的结果以柱状图的形式展示。

2 结果

2.1 黄精-百合活性成分的筛选 通过 TCMSP 数据库检索的黄精化学成分 38 个,百合化学成分 84 个,根据药代动力学的方法设置 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$, 通过 OB 与 DL 的筛选得到黄精的活性成分 12 个,百合的活性成分 7 个 (表 1)。具备人体对药物的吸收、分布、代谢及排泄全面过程,综合为 (ADME) 特性筛选出来药对中的 19 种活性成分具有较好的生物利用度,利于进入血液循环并达到靶器官组织发挥药效。黄精的化学成分是黄酮类和甾体皂苷,正好是中药黄精中含量较高的成分,作为发挥作用的主要物质基础。黄芩素 (baicalein), β -谷甾醇 (beta-sitosterol), 谷甾醇 (sitosterol), 甲基原薯蓣皂苷 (methylprotodioscin), 薯蓣皂苷元 (diosgenin), 4', 5-二羟基黄酮 (4', 5-dihydroxyflavone) 均具有具有抗炎、抗肿瘤、止咳祛痰等作用^[20]; 百合中的化学成分主要是甾醇类,也是作为中药百合中主要的物质基础而发挥作用。主要含有豆甾醇 (stigmasterol), β -谷甾醇等,经药理学证明具有降血糖、抗肿瘤、抗真菌等多重功效,并且对肝脏具有保护作用^[21], 本研究中筛选出来的成分基本涵盖两种中药的主要物质基础,具有实际的抗肿瘤意义。

2.2 黄精-百合药对的活性成分抗癌的潜在作用靶点预测 通过 DisGeNET 平台和 OMIM 平台共收集癌症相关靶点基因共 3 408 个,合并去重后最终获得疾病靶点基因 1 870 个。采用 Omicshare 平台将药物潜在作用的靶点基因同疾病基因进行匹配并绘制韦恩图 (图 1), 获得共同基因 31 个,属于黄精的有 30 个,分别为雌激素受体 1 (ESR1), 前列腺素-内过氧化物合成酶 2 (PTGS2), 雄激素受体 (AR), Akt 丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (Akt1), 血管内皮生长因子 A

表 1 黄精-百合药对中潜在活性成分的筛选信息

Table 1 Information of potential active compounds in Polygonati Rhizoma and Lilii Bulbus

CAS 编号	分子 ID	名称	OB/%	类药性	来源
578-86-9	MOL001792	DFV	32.76	0.18	黄精
491-67-8	MOL002714	baicalein	33.52	0.21	黄精
21913-98-4	MOL002959	3'-methoxydaidzein	48.57	0.24	黄精
83-46-5	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	黄精
83-46-5	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	黄精
54522-52-0	MOL003889	methylprotodioscin	35.12	0.86	黄精
578-86-9	MOL004941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one	71.12	0.18	黄精
512-04-9	MOL000546	diosgenin	80.88	0.81	黄精
6665-67-4	MOL006331	4',5-dihydroxyflavone	48.55	0.19	黄精
128820-35-9	MOL009760	sibiricoside A	35.26	0.86	黄精
7374-79-0	MOL009763	(+)-syringaresinol-O-beta-D-glucoside	43.35	0.77	黄精
-	MOL009766	zhonghualiaoine 1	34.72	0.78	黄精
5835-26-7	MOL002039	isopimaric acid	36.2	0.28	百合
83-48-7	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76	百合
83-46-5	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	百合
-	MOL009449	26-O-beta-D-glucopyranosyl-3beta, 26-dihydroxy-choleslen-16, 22-dioxo-3-O-alpha-L-rhamnopyranosyl-(1-2)-beta-D-glucopyranoside_qt	32.43	0.80	百合
7336-33-6	MOL009458	3-demethylcolchicine	39.34	0.57	百合
-	MOL009465	26-O-beta-D-glucopyranosyl-3beta, 26-dihydroxy-5-cholesten-16, 22-dioxo-3-O-alpha-L-rhamnopyranosyl-(1-2)-beta-D-glucopyranoside_qt	35.11	0.81	百合
-	MOL009471	26-O-beta-D-glucopyranosyl-3beta, 26-dihydroxy-cholestan-16, 22-dioxo-3-O-alpha-L-rhamnopyranosyl-(1-2)-beta-D-glucopyranoside_qt	32.43	0.80	百合

(VEGFA), B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2), Fos 原癌基因, AP-1 转录因子亚基 (FOS), 基质金属蛋白酶-9 (MMP-9), 半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3), 肿瘤蛋白 P63 (TP63), 缺氧诱导因子 1 亚单位 α (HIF1A), FOS1, AP-1 转录因子亚基 (FOSL1), 髓过氧化物酶 (MPO), 芳基羟受体 (AHR), 胰岛素样生长因子 2 (IGF2), NADPH 氧化酶 5 (NOX5), 一氧化氮合成酶 2 (NOS2), 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG), 雌激素受体 2 (ESR2), 检查点激酶 1 (CHEK1), 钾电压门控通道亚家族 H 成员 2 (KCNH2), 肾上腺素受体 α_1A (ADRA1A), 阿片受体 Mu1 (OPRM1), Jun 原癌基因, AP-1 转录因子亚基 (JUN), 对氧磷酶 1 (PON1), 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A (CDKN1A), 脂肪酸合成酶 (FASN), 过氧化氢酶 (CAT), 磷脂酶 A2 组 IVA (PLA2G4A), 雷帕霉素激酶的机制目标 (MTOR); 属于百合的有 6 个, 分别为白三烯 A4 水解酶 (LTA4H), KCNH2, ADRA1A, OPRM1, JUN, PON1; 两者间共同靶点为 5 个, 分别为 KCNH2, ADRA1A,

OPRM1, JUN, PON1。表明黄精与百合两药均具有抗癌的基因, 合用可增强抗癌的作用, 各自的靶点都有相应的抗癌机制。

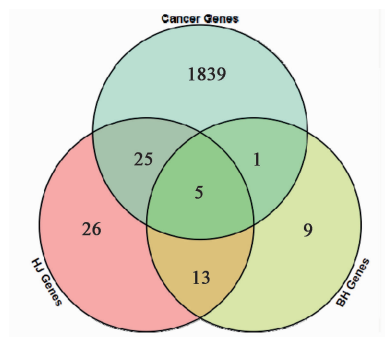


图 1 疾病靶点基因与黄精-百合药物靶点基因的匹配
Fig. 1 Matching of target genes between disease and Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus

2.3 黄精-百合药物-有效成分-癌症网络构建与分析 根据黄精、百合 2 种中药包含的关键 6 个有效活性成分, 对应的 31 个与疾病相关的靶点基因导入 Cytoscape 软件构建网络图进行可视化展示。药物-

活性成分-疾病网络图总共包括 39 个节点,31 条对应疾病的靶点以及 68 条边,图中红色代表疾病癌症,紫色代表黄精-百合药对,蓝色代表药对的有效成分,粉色代表药对与疾病互相作用的靶点,相连的边表示药对与药物活性成分、疾病与疾病的靶点、药物活性成分间与疾病靶点间的各自对应关系。其中,黄精-百合药对映射 6 种主要有效抗癌成分,网络图显示的分别是黄芩素 (baicalein),薯蓣皂苷元 (diosgenin), β -谷甾醇,3'-methoxydaidzein,DFV,豆甾醇 (stigmasterol),癌症疾病及中药药对的 6 个成分又分别映射 31 个关键的疾病作用靶点,分别是 JUN, IGF2, HIF-1A, FOSL1, FOS, FASN, ESR2, ESR1, CHEK1, CDKN1A, CAT, Caspase-3, Bcl-2, AR, Akt1, AHR, ADRA1A, VEGFA, TP63, PTGS2, PPARG, PON1, PLA2G4A, OPRM1, NOX5, NOS2, MTOR, MPO, MMP9, LTA4H, KCNH2 (图 2)。表明以上筛选出来的有效成分及作用靶点可能是黄精-百合药对发挥抗癌作用的机制。

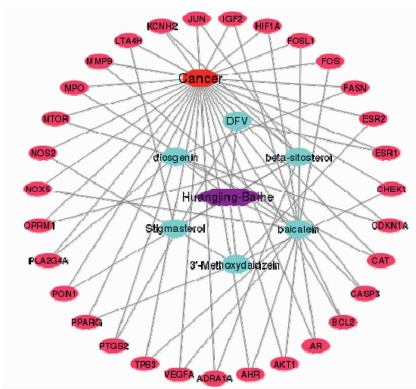


图 2 黄精-百合药物的有效成分与癌症的靶点网络
Fig. 2 Network of active ingredients of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus disease targets for cancer

2.4 黄精-百合药对关键基因蛋白互作网络分析

通过 String 数据库将黄精-百合药对中具有抗癌作用的 31 个潜在的作用靶点基因导入进去从而获得其中蛋白质之间互相发挥作用的关系图。再次将获得这些数据通过 Cytoscape 导入,绘制蛋白质关系网络图(图 3),结果表明,蛋白质间网络图包括 30 个节点,179 条边。Cytoscape 网络图分析,根据 Degree 的数值反应节点的数值大小,依据大小排名前五的靶基因分别是 Akt1, JUN, VEGFA, MMP9, Caspase-3。同时运用 (<https://www.r-project.org/>) 软件平台绘制核心基因的可视化柱状图(图 4),得出 Akt1 的连接节点为 25 个靶蛋白基因, JUN 连接节点为 22 个,其余 VEGF, MMP-9, Caspase-3, FOS 的连接节点均

为 20 个。证明这几种基因在整个蛋白质的网络中发挥重要的互作关系,属于本研究中的核心基因,可能在药物成分参与抗癌机制的中具有关键意义。

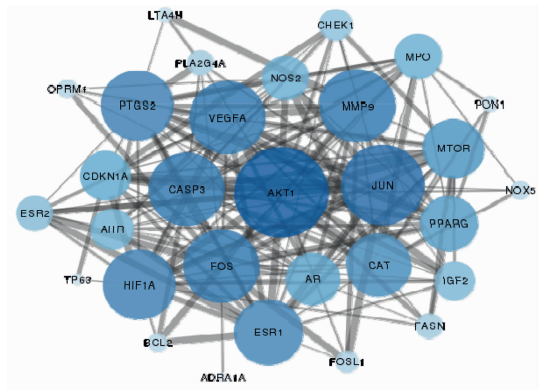


图 3 黄精-百合药对靶蛋白互作的 PPI 网络
Fig. 3 PPI Network of protein interaction of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus

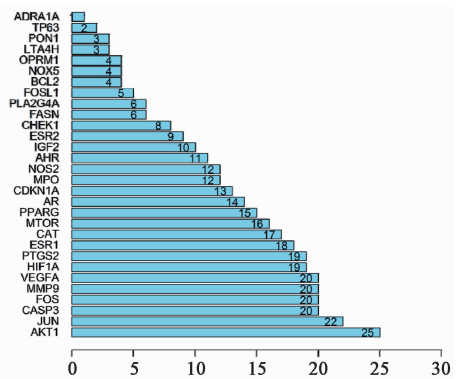


图 4 黄精-百合药对抗癌核心基因
Fig. 4 Column map of anti-cancer key targets in Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus

2.5 黄精-百合药对中关键靶点基因生物学功能及通路分析

根据 GO 注释结果显示,黄精-百合的 31 个关键基因的富集前 10 位生物学功能主要是核受体的活动(5 个靶点),转录因子活性调节序列特异性 DNA 结合(5 个靶点),RNA 聚合酶 II 转录因子结合(6 个靶点),转录激活因子活性 RNA 聚合酶 II 近端启动子序列特异性 DNA 结合(7 个靶点),转录因子活性 RNA 聚合酶 II 近端启动子序列特异性 DNA 结合(8 个靶点),NADP 结合(4 个靶点),类固醇激素受体(4 个靶点),血红素结合(5 个靶点),四吡咯结合(5 个靶点),RNA 聚合酶 II 基础转录因子结合(3 个靶点)(图 5,表 2)。气泡图同理,圆点越大,富集越多,P 值越小,颜色越红(图 6)。表明黄精-百合药对通过参与以上的生物学调控过程发挥抗癌的作用机制。

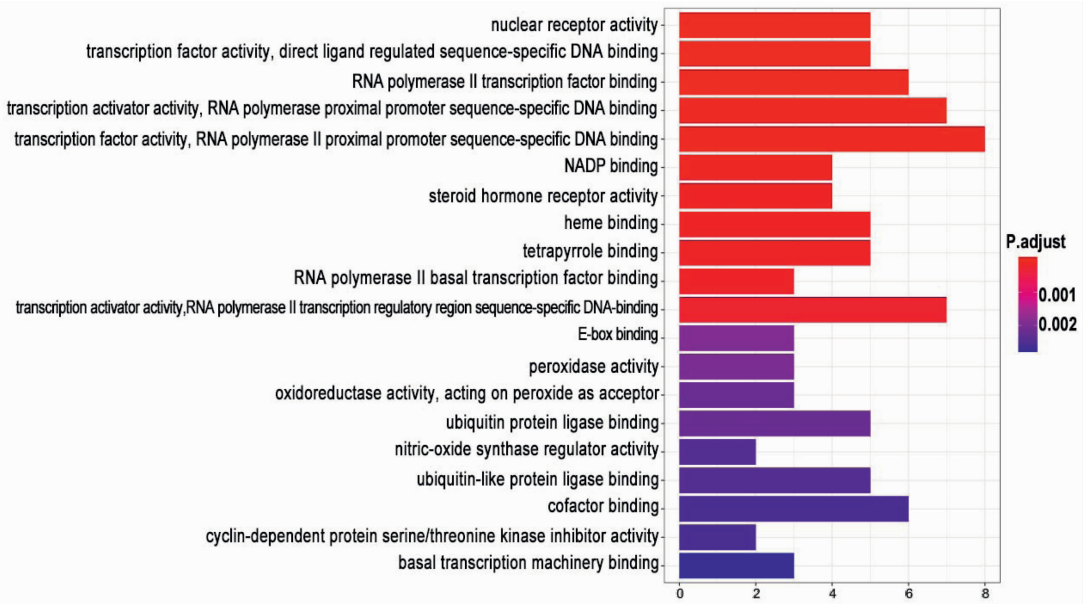


图 5 黄精-百合药对活性成分抗癌关键靶点的 GO 富集

Fig. 5 GO enrichment of key anti-cancer targets from active ingredients of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus

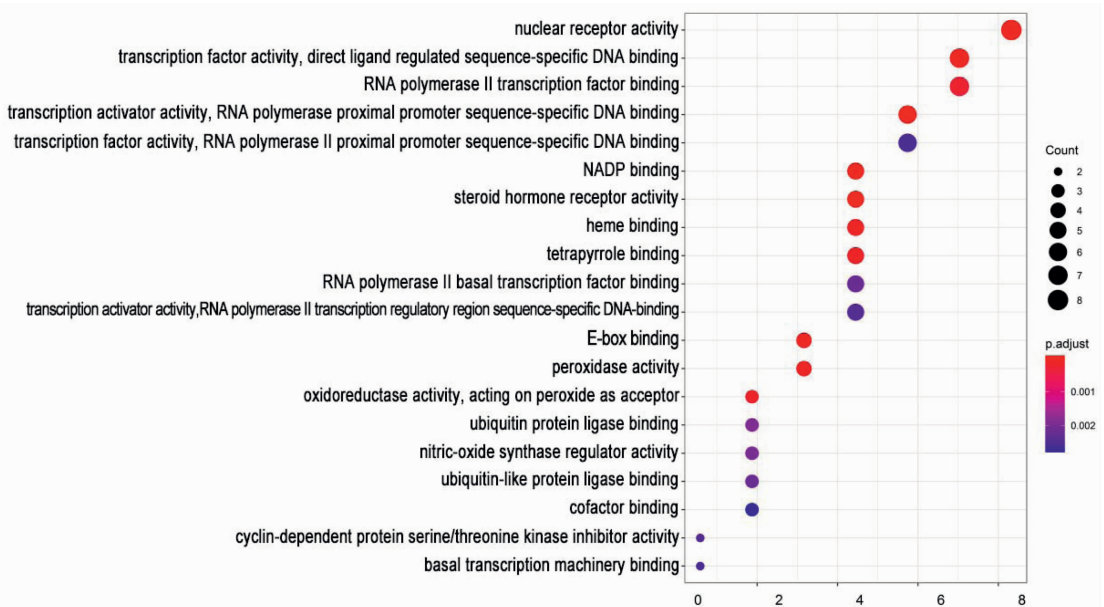


图 6 黄精-百合药对活性成分抗癌关键靶基因 GO 富集气泡图分析

Fig. 6 GO enrichment analysis of key anti-cancer targets from active ingredients of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus

2.6 KEGG 通路富集分析显示 黄精-百合的关键基因靶点主要富集的通路为内分泌抵抗,卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染,癌症中的蛋白多糖,肝炎,雌激素信号转导通路,人免疫缺陷病毒 1 感染, HIF-1 信号通路,白细胞介素-17 (IL-17) 信号转导通路, TNF 信号通路,松弛素信号通路,癌症中的胆碱代谢,流体剪切应力与动脉粥样硬化,糖尿病并发症的 AGE-RAGE 信号通路,癌症中的 microRNAs 通路,辅助性 T 细胞 17 (Th17 细胞分化),并与前列腺癌、

结直肠癌、小细胞肺癌、乳腺癌、肾细胞癌等癌症通路有相关性,表明黄精-百合药对的有效成分靶点可以作用于不同的通路和癌肿,并且可以拓展治疗其他疾病和癌症的路径(图 7,表 3)。

3 讨论

中医药抗癌的治疗体系已经日渐成熟,配合化疗治疗可减毒增效,两药均可养生保健,提高机体免疫力,改善癌症患者的生活品质,延长寿命。癌症的中医病机为正气亏虚,气滞、痰凝、血瘀搏结于

表 2 黄精-百合药对抗癌基因生物学功能信息

Table 2 Gene biological function information of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus in treatment of cancer

ID	GO 生物过程	基因数	P
GO:0004879	nuclear receptor activity	5	2.40×10^{-8}
GO:0098531	transcription factor activity, direct ligand regulated sequence-specific DNA binding	5	2.40×10^{-8}
GO:0001085	RNA polymerase II transcription factor binding	6	1.41×10^{-7}
GO:0001077	transcription activator activity, RNA polymerase proximal promoter sequence-specific DNA binding	7	6.82×10^{-7}
GO:0000982	transcription factor activity, RNA polymerase II proximal promoter sequence-specific DNA binding	8	7.57×10^{-7}
GO:0050661	NADP binding	4	1.70×10^{-6}
GO:0003707	steroid hormone receptor activity	4	2.32×10^{-6}
GO:0020037	heme binding	5	3.05×10^{-6}
GO:0046906	tetrapyrrole binding	5	4.38×10^{-6}
GO:0001091	RNA polymerase II basal transcription factor binding	3	5.50×10^{-6}
GO:0001228	transcription activator activity, RNA polymerase II transcription regulatory region sequence-specific DNA-binding	7	1.03×10^{-5}
GO:0070888	E-box binding	3	9.12×10^{-5}
GO:0004601	peroxidase activity	3	0.000 102 589
GO:0016684	oxidoreductase activity, acting on peroxide as acceptor	3	0.000 128 066
GO:0031625	ubiquitin protein ligase binding	5	0.000 130 368
GO:0030235	nitric-oxide synthase regulator activity	2	0.000 162 922
GO:0044389	ubiquitin-like protein ligase binding	5	0.000 165 539
GO:0048037	cofactor binding	6	0.000 192 413
GO:0004861	cyclin-dependent protein serine/threonine kinase inhibitor activity	2	0.000 165 292
GO:0001098	basal transcription machinery binding	3	0.000 228 253

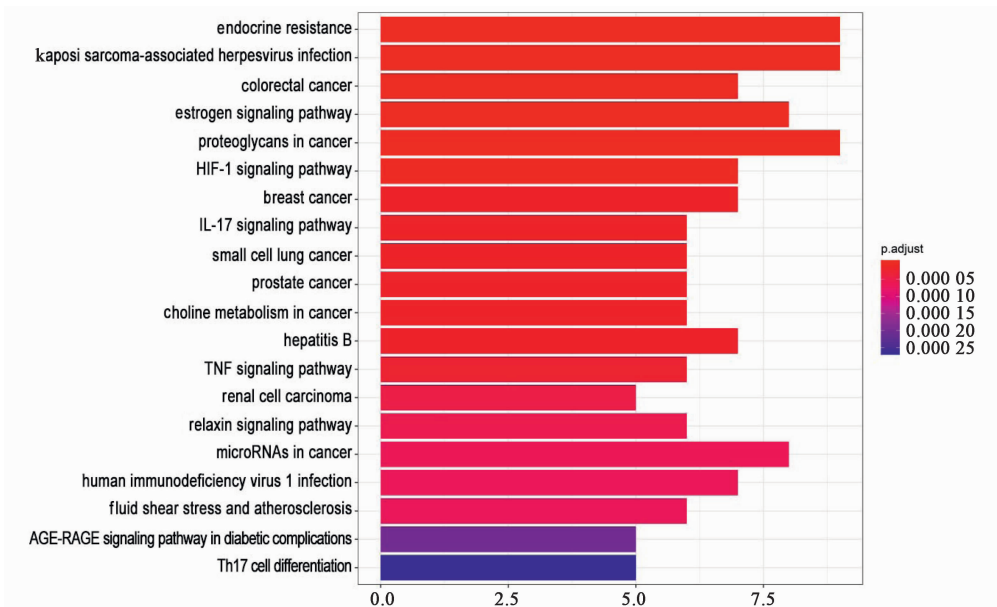


图 7 黄精-百合药对有效成分抗癌关键靶基因 KEGG 通路富集

Fig. 7 KEGG pathway of key anti-cancer targets form active ingredients of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus

脏腑, 气血津液不通形成结块而成癌^[22]。中医抗癌重在先扶正, 再攻邪, 以防机体不能耐受。黄精、百

合作为日常的滋阴补益药物, 通常配伍可用于治疗各种肿瘤。百合可滋阴益精, 清热润肺, 清心安神,

表 3 黄精-百合药对抗癌的关键通路

Table 3 Key pathway of Polygonati Rhizoma-Lilii Bulbus in treatment of cancer

KEGG 信号通路	基因数 / 个	占比 / %	P
endocrine resistance	9	12.5	2.91×10^{-11}
kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	9	23.7	9.19×10^{-9}
colorectal cancer	7	11.0	1.47×10^{-8}
estrogen signaling pathway	8	17.6	1.74×10^{-8}
proteoglycans in cancer	9	25.6	1.81×10^{-8}
HIF-1 signaling pathway	7	12.8	4.23×10^{-8}
breast cancer	7	18.8	6.01×10^{-7}
IL-17 signaling pathway	6	11.9	7.23×10^{-7}
small cell lung cancer	6	11.9	7.23×10^{-7}
prostate cancer	6	12.4	9.28×10^{-7}
choline metabolism in cancer	6	12.6	1.05×10^{-6}
Hepatitis B	7	20.8	1.21×10^{-6}
TNF signaling pathway	6	14.0	1.95×10^{-6}
renal cell carcinoma	5	8.8	3.83×10^{-6}
relaxin signaling pathway	6	16.6	5.17×10^{-6}
microRNAs in cancer	8	38.1	6.50×10^{-6}
human immunodeficiency virus 1 infection	7	27.0	6.99×10^{-6}
fluid shear stress and atherosclerosis	6	17.7	7.62×10^{-6}
AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	5	12.8	2.38×10^{-5}
Th17 cell differentiation	5	13.6	3.30×10^{-5}

黄精补气养阴, 滋肺、脾、肾三脏之阴, 阳得阴助而生化无穷, 重视补益可以增强患者的体质, 提高抵抗力。临床上 2 种中药组成的抗癌成药制剂也不胜枚举, 例如贞芪扶正注射液、贞芪扶正颗粒等^[16]。另外通过对半夏、厚朴抗癌成分的物质基础及相关机制总结分析, 探讨出药对抗肺癌的关键机制^[23], 以及黄芪、莪术两药合用抗大肠癌的机制, 为临床的中药配伍抗癌以及抗肿瘤药物的开发方面提供了思维借鉴^[24]。

本研究中黄精的主要活性成分是黄芩素 (baicalein), 薯蓣皂苷元 (diosgenin), β -谷甾醇, 3'-methoxydaidzein, DFV; 百合的主要活性成分是豆甾醇, β -谷甾醇, 这几种活性成分主要参与了黄精-百合药对抗癌的作用机制, 这与目前的相关研究结果存在一致性, 证明了本研究预测结果的可靠性。黄精中的活性成分研究表明黄芩素可以增加人结肠癌

SW480 细胞的 Caspase-3 活性, 通过 Caspase-3 的信号通路促进结肠癌细胞凋亡^[25]。另外, 还可以通过腺苷酸活化蛋白激酶/类 UNC-51 自噬激活激酶 1/雷帕霉素靶蛋白 (AMPK/ULK1/mTOR) 通路诱导前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌等肿瘤细胞的自噬而发挥抗肿瘤作用^[26]。薯蓣皂苷元抗癌通路作用广泛, 能调控不同的通路诱导乳腺癌、结肠癌、肝癌、食管癌等癌细胞的凋亡^[27]。薯蓣皂苷元可通过阻滞肿瘤细胞 G₁ 期, 从而上调 Bcl-2 相关 X 凋亡调节因子 (Bax), Caspase-3 的表达和下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达, 抑制人三阴乳腺癌细胞系 HCC1937 的增殖与侵袭^[28]。据相关报道, β -谷甾醇可以有效抑制结肠癌、乳腺癌、前列腺癌等癌细胞的增殖, 不过具有低水溶性、低生物利用度、低靶向功效的特点, 一定程度上限制了此种抗癌成分的开发和利用^[29]。百合与黄精共有的化学成分 β -谷甾醇可以诱导 Caspase-3/9 的活化, 下调抗凋亡 Bcl-2 蛋白和 mRNA 的表达, 增加细胞色素的释放^[30], 可以通过磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白 (PI3K/Akt/mTOR) 通路抑制乳腺癌细胞的增殖和迁移^[31]。目前相关研究主要证实豆甾醇的对肝癌、皮肤癌的癌细胞有诱导凋亡的作用^[32-33], 其余癌种的抗癌机制尚未报道, 今后可以拓展研究的方向, 发掘豆甾醇多种抗癌机制。

根据蛋白互作关系的网络图分析, 本研究中获得的主要靶点为 Akt1, JUN, VEGFA, MMP-9, Caspase-3, FOS, 结合 KEGG 通路分析结果得出, 主要富集的癌种为前列腺癌、结直肠癌、乳腺癌、肾细胞癌等。本研究结果与上文中活性成分的结果基本一致。Akt1 是 Akt 激酶中重要的调节因子, Akt1 可以在大多数组织中表达, 活化作用可以促进细胞增殖, 抑制乳腺癌细胞中的细胞迁移和侵袭, 乳腺癌细胞下调 Akt1 的蛋白质表达, 与乳腺癌的转移相关^[34]。c-jun 是 JUN 基因中的一种蛋白, 相互之间形成同源二聚体。研究证实, c-jun 在乳腺癌发生、发展、转移中起着重要作用, 可作为评估预后的指标^[35], 同时蛋白表达上调的水平, 直接影响结直肠癌的发生、发展及预后^[36]。VEGF 是一种高度特异性的促血管内皮细胞生长因子, 有助于癌症生长和直接对靶向肿瘤细胞的转移, 其表达水平与乳腺癌、结直肠癌、肺癌、肾癌、前列腺癌等肿瘤的增殖、凋亡密切相关^[37]。MMP-9 是具有维持和降解细胞外基质平衡功能的蛋白酶, 在结肠癌、乳腺癌中表达水平的升高, 可以作为监测肿瘤转移及复发的指标^[38]。

FOS 是 AP-1 中一种以同源或异源二聚体的形式存在的靶基因,c-Fos 是 FOS 基因的产物,共同参与细胞的增殖、分化、凋亡等生物学过程,c-Fos 基因的表达与肿瘤的形成和转移等方面呈相关性^[39]。Caspase-3 通过参与细胞凋亡的许多关键的 DNA 碎片、染色质边缘化、核塌陷和分裂,对调节 B 细胞内环境平衡至关重要,Caspase-3 基因的突变和表达下调易导致恶变,与乳腺癌、肺癌、结肠癌等癌症的发病与遗传存在一定关联性^[40]。

本文中 GO 的注释结果表明黄精-百合药对抗癌的生物过程主要富集在核受体的活动,RNA 聚合酶 II 转录因子结合,转录因子活性 RNA 聚合酶 II 近端启动子序列特异性 DNA 结合,RNA 聚合酶 II 基础转录因子结合等。KEGG 的富集通路主要富集在内分泌抵抗、癌症中的蛋白多糖、癌症中的 microRNAs 通路,HIF-1 信号通路,TNF 信号通路、癌症中的胆碱代谢、松弛素信号通路等通路。

综上所述,本研究中的主要成分和基因表明黄精-百合药对是多成分、多靶点、多途径的互作发挥抗癌作用,探讨出黄精-百合药对中的主要活性物质成分、核心靶基因、关键抗癌机制及通路。不过其中的某些成分和基因研究的深度尚且欠缺,针对的癌种只有寥寥几种,值得深入探究并拓展更多的癌症种类。根据网络图的分析无法预测靶点的上调和下调,检索的数据库不够全面,研究结果对药代动力学上的信息较为缺乏,无法判断化学成分的口服用度的好坏以及是否有效的到达靶器官组织。相对而言,研究结果具有一定的局限性,还有待更多的临床试验进行科学验证。

[参考文献]

[1] 2018 全球癌症年报出炉! [J]. 疾病监测, 2018, 33(12):984.
[2] 曹毛毛,陈万青. 中国恶性肿瘤流行情况及防控现状 [J]. 中国肿瘤临床, 2019, 46(3):145-149.
[3] 徐婷,麦葭沂,向俊,等. “黄芪-当归”药对主要活性成分的网络药理学研究 [J]. 中药材, 2017, 40(9): 2195-2201.
[4] 黄雯琪,杨柱,唐东昕,等. 基于数据挖掘分析刘尚义教授治疗肺癌的临床用药特点 [J]. 长春中医药大学学报, 2017, 33(3):418-421.
[5] 陶爱恩,张晓灿,杜泽飞,等. 黄精属植物中黄酮类化合物及其药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(9):2163-2171.
[6] 赵文莉,赵晔, TSENG Y. 黄精药理作用研究进展

[J]. 中草药, 2018, 49(18):4439-4445.
[7] 刘鹏,林志健,张冰. 百合的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 201-211.
[8] 雷卢恒. 卷丹百合不同居群鳞茎提取物的抗氧化及肺癌细胞抑制特性研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2015.
[9] 百合黄精粥 [J]. 林业与生态, 2016(7):28.
[10] 王镜辉,杨柱,唐东昕,等. 国医大师刘尚义治疗肝癌用药规律研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(11):92-94.
[11] 李星. 治疗恶性肿瘤方剂中补益药的配伍应用探讨 [D]. 南京:南京中医药大学, 2017.
[12] BING Z, CHENG Z, SHI D, et al. Investigate the mechanisms of Chinese medicine Fuzhengkangai towards EGFR mutation-positive lung adenocarcinomas by network pharmacology [J]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1):293.
[13] 杨沙,段灿灿,晏仁义,等. 基于网络药理学的半枝莲抗肿瘤活性成分及整合作用机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(15):3471-3482.
[14] 甘东浩,陈德强,冯蓬,等. 基于网络药理学探讨骨碎补抗骨质疏松的物质基础及作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(13):186-191.
[15] 芳文涛,王倩. 基于网络药理学的石菖蒲-郁金药对治疗抑郁症作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(12):2607-2611.
[16] 庄振杰,李佳容,黄慈辉,等. 基于网络药理学的女贞子-黄芪药对的抗癌机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(12):195-202.
[17] 宗阳,董宏利,陈婷,等. 基于网络药理学黄芩-黄连药对治疗 2 型糖尿病作用机制探讨 [J]. 中草药, 2019, 50(4):888-894.
[18] 刘志强,王博龙. 基于网络药理学预测二妙丸“一方多效”的分子机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18):198-206.
[19] 刘鑫焯,吴嘉瑞,张丹,等. 基于网络药理学的附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(21):212-219.
[20] 李晓明. 黄精化学成分及药理作用的研究 [J]. 生物化工, 2018, 4(2):138-139, 145.
[21] 胡悦,杜运鹏,田翠杰,等. 百合属植物化学成分及其生物活性的研究进展 [J]. 食品科学, 2018, 39(15): 323-332.
[22] 朱紫薇,顾媛媛,韩玉生,等. 中医药在癌症治疗中的定位思考与研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(2): 423-425.
[23] 袁海建,李国银,姜俊,等. 半夏-厚朴药对抗肿瘤功效

- 物质基础及作用机制研究新思路[J]. 中草药, 2018, 49(8):1924-1931.
- [24] 刘夫艳,唐德才,谭喜莹. 黄芪-莪术药对基于网络药理学的抗大肠癌分子机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(13):176-185.
- [25] 王宁,畅灵丽,程琦,等. 黄芩素对结肠癌 SW 480 细胞增殖与凋亡的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(35):22-26.
- [26] 凌云,屠珏,蔡兆伟,等. 黄芩素诱导乳腺癌细胞自噬[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(7):1171-1176.
- [27] 王弥,李卫,郭亚春,等. 薯蓣皂苷元抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 承德医学院学报, 2017, 34(6):511-513.
- [28] 邓运宗,孙向东,郭寒冰,等. 薯蓣皂苷元对三阴乳腺癌细胞系 HCC1937 增殖及凋亡的影响[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(7):657-659.
- [29] ANDIMA M, COSTABILE G, ISERT L, et al. Evaluation of β -sitosterol loaded PLGA and PEG-PLA nanoparticles for effective treatment of breast cancer: preparation, physicochemical characterization, and antitumor activity [J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(4):232.
- [30] ALAM P, AL-YOUSEF H M, SIDDIQUI N A, et al. Anticancer activity and concurrent analysis of ursolic acid, β -sitosterol and lupeol in three different Hibiscus species (aerial parts) by validated HPTLC method[J]. *Saudi Pharm J*, 2018, 26(7):1060-1067.
- [31] ZHU Y, YAO Y, SHI Z, et al. Synergistic effect of bioactive anticarcinogens from soybean on anti-proliferative activity in MDA-MB-231 and MCF-7 human breast cancer cells *in vitro* [J]. *Molecules*, 2018, 23(7):1557.
- [32] ALI H, DIXIT S, ALI D, et al. Isolation and evaluation of anticancer efficacy of stigmasterol in a mouse model of DMBA-induced skin carcinoma [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9:2793-2800.
- [33] 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.
- [34] LI W, HOU J Z, NIU J, et al. Akt1 inhibition promotes breast cancer metastasis through EGFR-mediated β -catenin nuclear accumulation [J]. *Cell Commun Signal*, 2018, 16(1):82.
- [35] 孙秋红,林方才,孙欣,等. 细胞命运决定因子在乳腺癌中表达及其与 cyclinD₁, c-jun 和 Her-2 表达相关性研究[J]. 癌症进展, 2014, 12(5):479-482, 514.
- [36] 梁学清. 血管内皮生长因子(VEGF)基因-2578C/A(rs699947)多态性与泌尿系统肿瘤相关性的 Meta 分析[D]. 长春:吉林大学, 2017.
- [37] 王爱红,赵菊梅,王明全. PD-1、CTLA-4 和 MMP9 在伴或不伴淋巴结转移乳腺癌患者外泌体中的表达[J]. 现代免疫学, 2019, 39(2):110-114, 144.
- [38] 朱宁,原继荣,王德莹. c-fos 和 c-jun 与癌症关系的研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(2):6-7, 116.
- [39] 黄冠又,张欣,巫玉娟,等. MGMT 和 CASP3 基因多态性与胶质瘤易感性的关联研究[J]. 贵州医药, 2017, 41(11):1138-1140.
- [40] LIN J, ZHANG Y, WANG H, et al. Genetic polymorphisms in the apoptosis-associated gene CASP3 and the risk of lung cancer in chinese population [J]. *PLoS One*, 2016, 11(10):e0164358.

[责任编辑 张丰丰]