

基于网络药理学探讨黄连-吴茱萸治疗胃癌的作用机制

郑琦, 侯炜*

(中国中医科学院 广安门医院, 北京 100053)

[摘要] **目的:** 筛选黄连-吴茱萸配伍对胃癌治疗的主要活性成分, 预测两者共同活性成分的作用靶点, 建立药物活性成分-靶基因网络, 进一步探讨药对黄连-吴茱萸对胃癌治疗的潜在作用机制。**方法:** 采用中药系统药理学技术平台 (TCMSP), 筛选黄连-吴茱萸的潜在活性化学物质, 借助基因组注释 (Genecards) 数据库平台, 预测和筛选胃癌的作用靶点, 采用 Cytoscape (3.7.1) 软件, 构建“药物-活性化学物质-疾病-作用靶点”网络图, 借助 String 数据库平台构建蛋白质相互作用网络。最后利用 Bioconductor 平台和 R 语言进行基因本体 (GO) 富集分析和基因相互作用 (KEGG) 通路分析。**结果:** 通过筛选, 得到黄连的潜在活性成分 14 个, 吴茱萸的潜在活性成分 15 个, 共涉及与胃癌相关作用靶点 127 个。黄连-吴茱萸-胃癌共同靶点 33 个, 主要通过调控 PTGS2, PTGS1, AR, RXRA, NOS2 等靶基因及细胞凋亡, p53 信号通路, 白细胞介素 (IL)-17 信号通路等发挥对胃癌的治疗作用。**结论:** 黄连-吴茱萸对胃癌的治疗作用体现了中药多成分-多靶点的特点, 阐明了药对黄连-吴茱萸对胃癌治疗的作用机制与物质基础的科学内涵。

[关键词] 黄连; 吴茱萸; 胃癌; 网络药理学

[中图分类号] R22; R242; R2-031; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2020)07-0204-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200122

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190912.1300.003.html>

[网络出版时间] 2019-09-12 13:30

Molecular Mechanism of Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus for Gastric Cancer Based on Network Pharmacology

ZHENG Qi, HOU Wei*

(Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

[Abstract] **Objective:** To identify the main active components of Coptidis Rhizoma and Euodiae Fructus for the treatment of gastric cancer, predict the targets of the common active components in these two herbs, establish the network of active drug components-target genes, and further explore the potential mechanism and effect of Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus for the treatment of gastric cancer. **Method:** The active components of Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus were screened by Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database (TCMSP), gastric cancer targets were predicted and screened by Genecard database platform, "drug-active ingredient-disease-targets" networks were built by Cytoscape (3.7.1) software, and protein interaction networks were built by String database platform. Finally, Gene Ontology (GO) analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis were performed by using Bioconductor platform and R language. **Result:** The 14 potential active components of Coptidis Rhizoma and 15 potential active components of Euodiae Fructus were obtained, involving 127 targets related to gastric cancer. There were 33 common targets for Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus-gastric cancer, which played a therapeutic role in gastric cancer mainly by regulating target genes such as PTGS2, PTGS1, AR, RXRA and NOS2, as well as cell apoptosis, p53 signaling pathway and interleukin

[收稿日期] 20190505 (008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81673754)

[第一作者] 郑琦, 博士, 助理研究员, 从事中医药防治肿瘤的基础研究, E-mail: fiona19880607@sina.cn

[通信作者] * 侯炜, 硕士, 主任医师, 博士生导师, 从事中医药防治肿瘤方面的临床和基础研究, E-mail: houwei1964@163.com

(IL) -17 signaling pathway. **Conclusion:** The therapeutic mechanism of *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus* reflects the multi-component, multi-target and multi-pathway characteristics of traditional Chinese medicines and provides the scientific basis for further study and the material basis of *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus* against gastric cancer.

[**Key words**] *Coptidis Rhizoma*; *Euodiae Fructus*; gastric cancer; network pharmacology

胃癌是东亚地区高发恶性肿瘤之一。早期胃癌无特异性临床症状,我国 60% 的胃癌患者在初诊时已发展为进展期,且预后较差,5 年总生存率不到 30%,其发病率和死亡率呈逐年上升趋势,严重威胁着人民的生命和健康^[1-2]。肿瘤的治疗越来越强调综合性,中医在防治肿瘤复发转移、减轻化疗的副作用、增加化疗疗效等方面具有明显优势,成为肿瘤治疗中不可或缺的部分。

中药黄连为毛茛科植物黄连的干燥根茎,味苦,性寒,归心、脾、胃、肝、胆、大肠经。现代药理学研究,黄连具有抗炎、降压的作用。研究表明,黄连明显的抑制肿瘤细胞生长和转移,同时能调节癌症患者的免疫功能^[3]。中药吴茱萸为芸香科植物吴茱萸的干燥近成熟果实,味辛、苦,性热,归肝、脾、胃、肾经。具有散寒止痛、降逆止呕、助阳止泻之功效。现代研究表明其具有抗菌、镇静、抗惊厥的作用^[4]。黄连和吴茱萸为常用药对,二者配伍,一寒一热、一苦一辛、一降一升,相反相成。黄连清心,实是清泻肝热,用吴茱萸疏肝解郁、降气和胃。寒热并用,辛开苦降,主治肝胃热盛之胃气上逆反酸、呕恶等证^[5]。研究表明,二者配伍用药对胃癌细胞的增殖转移具有显著的抑制作用,但其抗癌具体机制尚未完全阐明^[6-8]。

中药具有多成分、多靶点的综合调节的作用。网络药理学是指从系统生物学的角度和生物网络平衡的角度阐释疾病的发生机制、药物的主要活性成分以及药物的作用靶点并指导新药研发。网络药理学紧紧围绕系统生物学、生物网络构建和分析,并建立在高通量组学上进行数据分析和挖掘。在网络数据库检索基础上,进行生物信息网络及网络拓扑结构构建等研究策略。本研究利用网络药理学研究中中药的潜在活性成分,使中药药理的研究向“多组分-多基因-多靶点”的模式转变^[9]。本研究通过相关数据库对黄连-吴茱萸药的潜在活性成分进行筛选,将活性成分靶点与胃癌相关靶点进行匹配,筛选出黄连-吴茱萸抗胃癌治疗潜在的关键作用靶点,对靶基因进行生物信息学分析。该研究构建药物-活性成分-疾病-靶点网络和靶点蛋白网络,为系统性

了解黄连-吴茱萸药对抗胃癌的机制提供全面认识,深入挖掘黄连-吴茱萸抗胃癌的作用机制,为进一步研究提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 中药化学成分及作用靶点信息获取及收集 研究采用中药系统药理学技术平台^[10] (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 检索黄连、吴茱萸两味药物的化学成分及靶点。TCMSP 是一个关于中草药系统的药理学平台,是西北农林科技大学王永华教授团队研发的。该数据库包括化学物质、靶点和药物靶点网络,以及相关的药物靶点网络,涉及口服生物利用度、药物相似性、肠上皮通透性、血脑屏障等天然化合物的药代动力学特性。该数据库包含了 499 味草药及其化合物成分(共计 29 000 余个),对于每个化合物提供了较全面的人体吸收、分布、代谢(ADME)性质评价数据,形成了药物-靶标-疾病网络,为系统研究中药作用机制提供了一个新的平台。本研究筛选药物成分口服生物利用度(OB) > 30% 和类药性(DL) > 0.18 的活性成分(ingredients),分析筛选黄连、吴茱萸中具有良好口服生物利用度和类药性的活性成分。利用该技术平台获取活性成分相关的作用靶点(related targets)。

1.2 疾病靶点的获取及收集 Genecard (<https://www.genecards.org/>) 是一个综合的人类基因-疾病相关的数据库,自动整合 125 个数据库,集成多个数据的文献,提供简明的基因组、蛋白质组、转录、遗传和功能上所有已知和预测的人类基因。通过输入特定基因或疾病,可以获取与疾病或基因相关的信息,包含转录组、蛋白组、遗传等庞大的信息^[11]。本研究使用该数据库通过输入关键词“gastric cancer”获取与胃癌相关靶标基因。由于与胃癌相关的基因较多,所以在导出文件时过滤部分基因,将相关性评分限制为 ≥ 5 分,利用 R 语言绘制将药物活性成分相关的靶点和疾病靶点进行匹配映射,并绘制维恩图(venn)获得黄连-吴茱萸活性成分的潜在抗胃癌作用靶点。

1.3 药物-共活性成分-关键靶点网络的构建 将黄连-吴茱萸的活性成分所对应的靶点基因和胃癌相关的靶点基因进行匹配,获得两者的共同基因即为黄连-吴茱萸抗胃癌的关键靶点。采用 Cytoscape 软件(Version 3.7.1)构建“药物-共活性成分-关键靶点基因”关系网络。网络外围节点代表疾病与药物活性成分的关键靶点基因;网络中显示的是 2 种药物共活性成分。整个网络展示药物-共活性成分-疾病靶点之间的联系,通过构建这一网络探析黄连-吴茱萸抗胃癌的作用机制。

1.4 关键靶点蛋白相关作用网络的构建 利用 STRING 数据库平台(<https://string-db.org/Version10.5>)预测的蛋白相互作用关系^[12]。将黄连-吴茱萸关键靶点导入 String 数据库,将研究物种选择为人类(Homo sapiens),获得蛋白互作关系,将结果以 TSV 格式导出。其中浅蓝色的线代表从数据库中的来的蛋白间作用,紫色线代表经过实验验证的蛋白间作用。

1.5 关键靶点基因本体(GO)富集分析和基因相互作用(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路分析 利用 Bioconductor 平台(<http://bioconductor.org/biocLite.R>)和 R 语言对获得的基因进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析。首先在 R 中进行安装包的安装,安装包语言包括 #install.packages("colorspace"), #install.packages("stringi"), #source("http://bioconductor.org/biocLite.R"), #biocLite("DOSE"), biocLite("clusterProfiler"), #biocLite("pathview") 导出 GO 富集分析表格,并绘制 barplot 柱状图和 dotplot 点图。KEGG 通路富集分析的安装语言同上,可导出 KEGG 富集分析表格,KEGG 通路图,并绘制 barplot 柱状图和 dotplot 点图。

2 结果

2.1 黄连-吴茱萸活性成分的筛选 通过 TCMSP 平台数据库检索的黄连化学成分 48 个,吴茱萸化学成分 176 个,通过 OB > 30% 和 DL > 0.18 进一步筛选得到黄连的潜在活性成分 14 个,吴茱萸潜在活性成分 15 个,见表 1。

2.2 黄连-吴茱萸成分抗癌的潜在作用靶点预测 通过 TCMSP 平台数据库检索,筛选 OB > 30% 和 DL > 0.18 的活性成分,利用该平台筛选活性成分对应的潜在作用靶点,去除无效和重复靶点后,得到黄连潜在活性成分的作用靶点 147 个,吴茱萸潜在活性成分的作用靶点 64 个。利用 Genecard 数据库

平台,检索“gastric cancer”,并筛选相关性评分 > 5 的基因,共得到胃癌疾病的潜在作用靶点 2 119 个。利用 R 语言绘制韦恩图(图 1),获得共同基因 127 个,其中归属于黄连的有 120 个,归属于吴茱萸的有 40 个,两者间共同靶点为 33 个,分别为 NOS2, PTGS1, KCNH2, ESRI, AR, PTGS2, RXRA, ADRB2, PRSS1, CHRM3, HTR3A, SLC6A3, SLC6A4, OPRM1, F7, NR3C2, ESR2, PPARG, RELA, Bcl-2, Bax, Caspase-9, MMP2, MMP9, JUN, Caspase-3, Caspase-8, PRKCA, CYP3A4, CYP1A2, PPARD, PON1, CHEK1。这提示黄连和吴茱萸在既有单独的关键作用靶点,发挥抗胃癌治疗的作用,又有共同的关键作用靶点,协同发挥抗胃癌作用。

2.3 药物-活性成分-关键作用靶点网络构建与分析 黄连与胃癌作用靶点相关的药物的潜在活性成分有 10 个,为 berberine, berberrubine, epiberberine, (R)-canadine, berlambine, corchoroside A _ qt, palmatine, quercetin, coptisine, worenine; 吴茱萸与胃癌作用靶点相关的药物的潜在活性成分有 12 个,为 berberine, rutaecarpine, isorhamnetin, beta-sitosterol, sitosterol, rutilinidine, 1-methyl-2-[(Z)-pentadec-10-enyl]-4-quinolone, dihydrrutaecarpine, 1-methyl-2-pentadecyl-4-quinolone, evodiamine, 1-(5, 7, 8-trimethoxy-2, 2-dimethylchromen-6-yl) ethanone, hydroxyevodiamine。其对胃癌作用靶点对应的共同活性成分为 berberine,其中黄连-吴茱萸与胃癌相关的关键靶点基因,导入 Cytoscape 软件进行网络构建及可视化(图 2)。结果表明,黄连-吴茱萸中连接度为前 5 的潜在活性分子为 quercetin, isorhamnetin, beta-sitosterol, rutaecarpine, palmatine, berberine(并列第 5)。吴茱萸与黄连共同作用的胃癌相关靶基因共计 33 个,其中连接度前 5 的关键靶点基因为 PTGS2, PTGS1, AR, RXRA, NOS2, 其中 PTGS2 和 AR 为吴茱萸与胃癌对应的相关靶基因,PTGS1, RXRA, NOS2 为二者共同与胃癌对应的相关靶基因。以上成分及基因是黄连-吴茱萸抗胃癌治疗的重要成分及重要靶点基因,在黄连-吴茱萸药对治疗胃癌中有重要意义。

2.4 关键靶点基因蛋白质相互作用网络分析 将黄连-吴茱萸抗胃癌治疗的 33 个潜在的关键靶点基因导入 String 数据库平台,选择物种为人类,获取蛋白质相互作用关系,利用该平台绘制蛋白关系网络(图 3)。排除 2 个游离的无相互作用蛋白,该网络图共包括 31 个节点,118 个边。其中综合数值

表 1 黄连-吴茱萸中潜在活性成分

Table 1 Potential active components of *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus*

MOL ID	MOL 名称	OB	DL	药物归属
MOL001454	berberine	36.86	0.78	黄连、吴茱萸
MOL013352	obacunone	43.29	0.77	黄连、吴茱萸
MOL002894	berberrubine	35.74	0.73	黄连
MOL002897	epiberberine	43.09	0.78	黄连
MOL002903	(R)-canadine	55.37	0.77	黄连
MOL002904	berlambine	36.68	0.82	黄连
MOL002907	corchoroside A _{qt}	104.95	0.78	黄连
MOL000622	magnograndiolide	63.71	0.19	黄连
MOL000762	palmidin A	35.36	0.65	黄连
MOL000785	palmatine	64.60	0.65	黄连
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	黄连
MOL001458	coptisine	30.67	0.86	黄连
MOL002668	worenine	45.83	0.87	黄连
MOL008647	moupinamide	86.71	0.26	黄连
MOL002662	rutaecarpine	40.30	0.60	吴茱萸
MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31	吴茱萸
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	吴茱萸
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	吴茱萸
MOL003942	rutaevine	66.05	0.58	吴茱萸
MOL003943	rutalinidine	40.89	0.22	吴茱萸
MOL003963	hydroxyevodiamine	72.11	0.71	吴茱萸
MOL003956	dihydrorutaecarpine	42.27	0.60	吴茱萸
MOL003958	evodiamine	86.02	0.64	吴茱萸
MOL003957	1-methyl-2-pentadecyl-4-quinolone	44.52	0.46	吴茱萸
MOL003960	1-(5,7,8-trimethoxy-2,2-dimethylchromen-6-yl) ethanone	30.39	0.18	吴茱萸
MOL003947	1-methyl-2-[(Z)-pentadec-10-enyl]-4-quinolone	48.45	0.46	吴茱萸
MOL003950	1-methyl-2-[(Z)-undec-6-enyl]-4-quinolone	48.48	0.27	吴茱萸

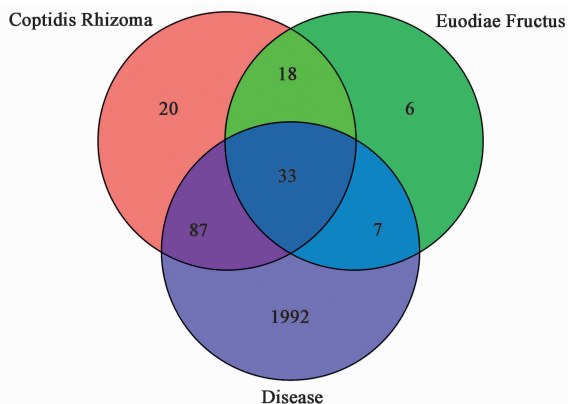


图 1 胃癌靶点基因与黄连-吴茱萸靶点基因的匹配基因
Fig.1 Venn diagram of gastric cancer target genes and *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus* target genes

评分 > 0.95 的相互作用蛋白为 Caspase-8-Caspase-3, RXRA-PPARG, Bcl-2-Caspase-8, Caspase-8-Caspase-9, RELA-JUN, ESR1-JUN, Caspase-9-Caspase-3, Bcl-2-Bax, AR-Caspase-8, RELA-PPARG, JUN-PPARG, JUN-NOS2, RXRA-PPARG, RELA-Caspase-8, CYP1A2-CYP3A4, 这些蛋白之间的相互作用在网络中具有重要地位, 这些靶点基因在黄连-吴茱萸抗胃癌治疗中具有重要意义, 可作为药对黄连-吴茱萸有效成分作用的靶点基因。

2.5 关键靶点基因生物功能及通路分析 GO 富集分析结果显示, 黄连-吴茱萸的 33 个潜在关键靶点基因的 GO 富集排名, 靠前的生物学功能主要为类固醇激素受体活性 (7 个靶点 ESR1, AR, RXRA,

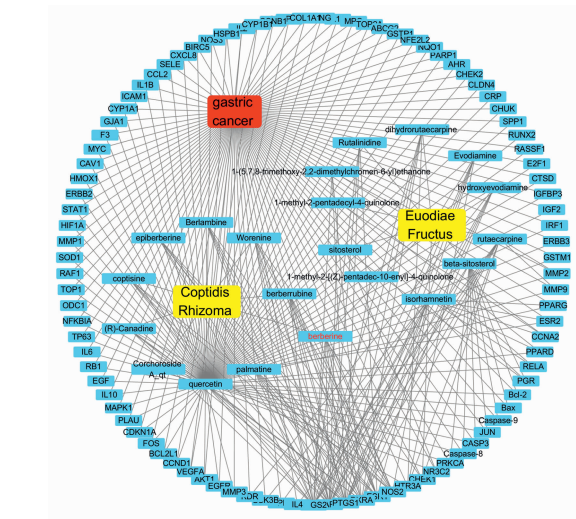


图 2 黄连-吴茱萸药物、活性成分与胃癌关键作用靶点网络
Fig. 2 Drug-component-target network for active ingredients of Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus and gastric cancer

NR3C2, ESR2, PPARG, PPARD), 核受体的活性 (6 个靶点 ESR1, AR, RXRA, ESR2, PPARG, PPARD), 转录因子活性 (6 个靶点 ESR1, AR, RXRA, ESR2, PPARG, PPARD), 半胱氨酸型内肽酶活性参与细胞凋亡过程 (3 个靶点 Caspase-9, Caspase-3, Caspase-8), RNA 聚合酶 II 转录因子结合 (5 个靶点 ESR1, AR, PPARG, JUN, PPARD) 等 (图 4), 表明黄连-吴茱萸就可以通过参与调控多种生物学过程而发挥抗癌作用。

KEGG 通路富集分析显示, 黄连-吴茱萸的关键基因靶点主要富集的通路为内分泌抵抗, 细胞凋亡, p53 信号通路, IL-17 信号通路, 肿瘤坏死因子信号通路等。且与癌症中小细胞肺癌、结肠直肠癌、前列腺癌、非小细胞肺癌、乳腺癌、胰腺癌、膀胱癌、胃癌、

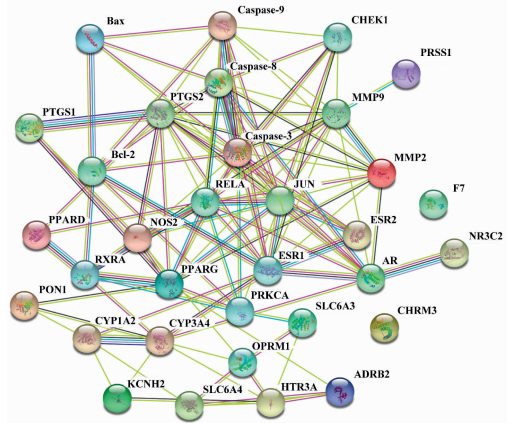


图 3 黄连-吴茱萸抗胃癌相关基因的蛋白质相互作用网络
Fig. 3 Protein interaction networks of anti-gastric cancer genes in Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus

子宫内膜癌等肿瘤密切相关。以上研究表明黄连-吴茱萸的活性成分靶点分布于不同的通路, 可通过各通路协调发挥抗癌作用 (图 5), 同时黄连-吴茱萸的关键靶点基因富集于多种癌症通路上, 提示此类型的癌症可作为未来研究黄连-吴茱萸抗癌疗效的重要方向。

3 讨论

药对是指中医临床用药中两味相对固定的药物配伍组合, 共同使用具有增效减毒的作用。周晟等^[13]对黄连-吴茱萸的配伍结构及应用规律进行研究, 归纳总结了 36 部涉及黄连-吴茱萸的中医古籍。如黄连-吴茱萸最早可见于《太平圣惠方》, 常见应用有左金丸 (6:1), 茱萸丸 (1:1), 甘露散 (2:1) 等。其配伍主要围绕肝、脾、胃等脏腑, 多见于湿邪、热邪等^[13]。

胃癌是临床常见恶性肿瘤之一, 根据其临床

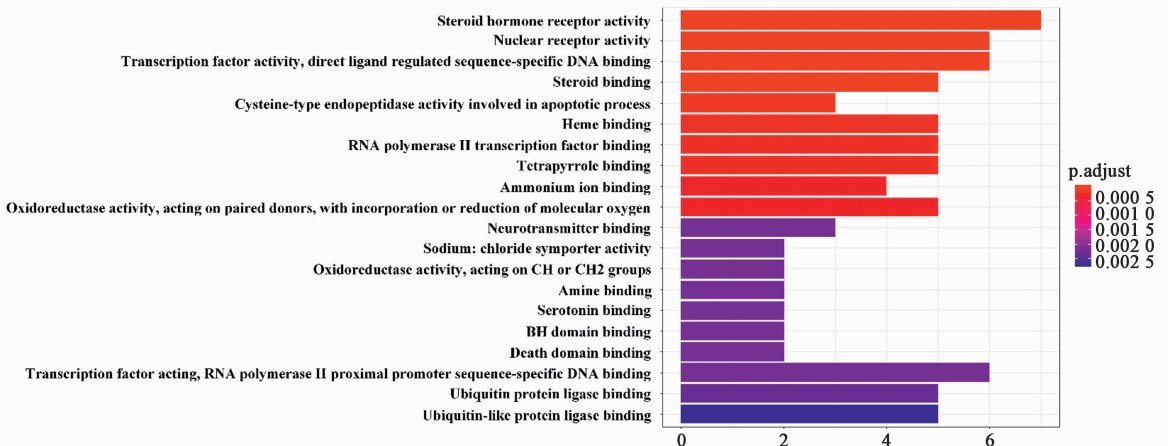


图 4 黄连-吴茱萸活性成分抗癌关键靶点的 GO 生物学过程富集分析
Fig. 4 Enrichment analysis on GO biological processes of key targets from active compounds of Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus

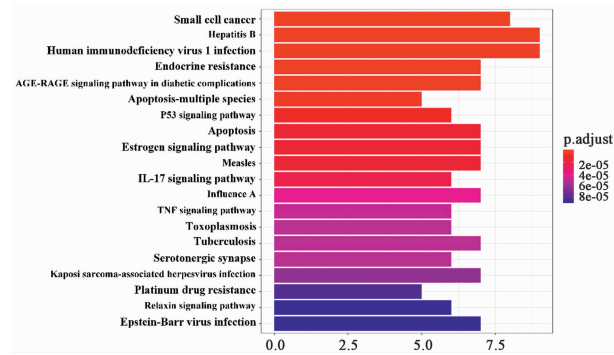


图 5 黄连-吴茱萸活性成分抗癌关键靶点的 KEGG 代谢通路富集分析

Fig. 5 Enrichment analysis on KEGG pathways of key targets from active compounds of Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus

特点,在中医学范畴内属于“反酸”“胃痛”“嘈杂”等。肿瘤细胞归属于“邪气”,常见胃癌患者临床症状见胃脘不适、口苦胁胀、反酸等。黄连与吴茱萸配伍组成方剂最常用的为左金丸,出自《丹溪心法》,以黄连-吴茱萸 6:1 组成;二药合用,辛开苦降,肝胃同治,主治肝火反胃证^[14]。

左金丸在治疗胃癌的实验研究方面取得了一定的研究进展^[15]。本研究中药物活性成分-疾病-靶点网络显示,黄连与吴茱萸共同的活性成分为小檗碱(berberine),从靶点网络图中可以看出与胃癌靶基因的相关性更密切的活性成分为黄连中小檗红碱(berberrubine),巴马汀(palmatine),槲皮素(quercetin);吴茱萸中异鼠李素(isorhamnetin), β -谷甾醇(beta-sitosterol),吴茱萸次碱(rutaecarpine),羟基吴茱萸碱(hydroxyevodiamine)。提示他们在黄连与吴茱萸协同发挥抗胃癌治疗中发挥着重要作用,这与目前的相关研究结果相一致,表明本研究结果的可靠性。

黄连与吴茱萸的共同活性成分,小檗碱是一种常用的治疗肠胃炎的中药,越来越多的研究表明,小檗碱对多种肿瘤细胞,尤其是胃癌细胞具有抑制作用。小檗碱对胃癌细胞生长有显著的抑制作用,诱导其凋亡,其作用机制与抑制 STAT3 的磷酸化^[16],激活 EGFR 信号通路有关,小檗碱可显著降低 Bcl-L 和 CyclinD₁ 的蛋白表达降低,升高 PARP 水平明显^[17]。黄连中含有小檗红碱可以看作是作为小檗碱分子结构中 9 位甲氧基转变为羟基的衍生物,其抗菌作用较小檗碱低,却表现出很强的体外抑瘤作用^[18]。巴马汀对胰腺癌细胞^[19]、肝癌细胞^[20]、前列腺癌^[21]、乳腺癌细胞^[22]等有很好的抑制作用。

研究表明,槲皮素在体外可抑制多种癌细胞,如胃癌、乳腺癌、肝癌、肺癌、宫颈癌的增殖与转移,诱导肿瘤细胞凋亡^[23]。槲皮素可显著抑制人胃癌 AGS 细胞凋亡,降低了 Mcl-1, Bcl-2, Bcl-X 抗蛋白的表达,而增加了 Bad, Bax, Bid 的促凋亡蛋白的表达,从而引起细胞形态学改变,其降低总生存能力相关,作用机制与上调 TNFRSF10D, TP53INP1, JUNB 和下调 VEGFB, CDK10, KDELC2 基因相关^[24]。吴茱萸的活性成分异鼠李素可以抑制胃癌细胞增殖。研究发现,其诱导胃癌细胞凋亡,裸鼠成瘤实验中,异鼠李素可显著增强卡培他滨的凋亡作用,其作用机制与 NF- κ B 信号通路相关^[25]。异鼠李素联合化疗药物具有较强的抗增殖作用,增加细胞毒性,异鼠李素抑制了胃癌细胞的的迁移和侵袭能力,其抗肿瘤作用的可能与介导 PPAR- γ 途径相关^[26]。研究发现, β -谷甾醇可通过诱导 AGS 细胞凋亡显著降低其存活率, β -谷甾醇通过介导 AMPK, PTEN 和 Hsp90 信号通路在 AGS 细胞和移植瘤小鼠模型中发挥抗癌作用^[27], β -谷甾醇对体外培养的人胃癌细胞 SGC-7901 具有明显的抑制和诱导凋亡作用。Bcl-2/Bax 降低和 DNA 损伤可能是 β -谷甾醇诱导胃癌细胞凋亡的重要机制^[28]。以上结果说明黄连、吴茱萸可通过多成分、多靶点的协同作用而充分发挥抗胃癌和其他癌种的作用,为中药单体抗癌药物的研发提供了新线索。

GO 富集分析结果显示,黄连-吴茱萸两者共有的关键靶点发现,PTGS2, PTGS1, AR, RXRA, NOS2 在网络调控中有重要作用,提示其可作为黄连-吴茱萸药对抗癌治疗的重要靶点。KEGG 通路富集分析显示,黄连-吴茱萸的关键基因靶点主要富集的通路为内分泌抵抗,细胞凋亡, p53 信号通路等,这些通路都与癌症的形成与发展密切相关。且对多种癌症如小细胞肺癌、结肠直肠癌、前列腺癌、非小细胞肺癌、乳腺癌等癌肿密切相关,这与目前上述药物活性成分的靶点基因基本一致,可作为未来研究黄连-吴茱萸抗癌疗效的重要病种。

综上所述,本研究应用网络药理学方法,对黄连-吴茱萸治疗胃癌的作用机制进行初步探讨,结果表明了黄连-吴茱萸的主要潜在活性成分及作用靶基因与胃癌作用通路的关系,为进一步深入探讨其作用机制提供了新思路,通过文献研究得到一些启示,但仍需进一步的实验研究进行验证。

【参考文献】

[1] 陈金东. 中国各类癌症的发病率和死亡率现状及发

- 展趋势[J]. 遵义医学院学报, 2018, 41(6): 653-662.
- [2] 白慧霞. 中国胃癌发病率及死亡率研究进展[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(7): 192.
- [3] 孙洁, 严广华. 黄连化学成分及有效成分药理活性的研究进展[J]. 中国继续医学教育, 2018, 10(8): 140-143.
- [4] 冯苗苗, 王幼平. 吴茱萸碱在抗炎作用中的研究进展[J]. 中医临床研究, 2017, 9(10): 127-130.
- [5] 赵平, 许浚, 张铁军, 等. “病-证-方-药”结合探析左金丸配伍的科学内涵[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(23): 3380-3385.
- [6] 孙梦瑶, 王丹丹, 吴秋雪, 等. 左金丸对胃癌耐药细胞 SGC-7901/DDP 增殖和糖酵解的抑制作用[J]. 上海中医药大学学报, 2019, 33(1): 71-75.
- [7] 张彦博, 李琦, 刘艳娜, 等. 左金丸通过 Wnt/ β -catenin 信号通路对幽门螺杆菌感染的人胃癌细胞转移的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2015, 29(2): 44-47, 52.
- [8] 叶乃菁, 刘宣, 李琦. 左金丸及其活性成分抗胃癌的实验研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(4): 1162-1164.
- [9] LUO T T, LU Y, YAN S K, et al. Network pharmacology in research of chinese medicine formula: methodology, application and prospective[J]. Chin J Integr Med, 2019, doi: 10.1007/s11655-019-3064-0.
- [10] RU J, LI P, WANG J, et al. TC MSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, doi: 10.1186/1758-2946-6-13.
- [11] FISHILEVICH S, ZIMMERMAN S, KOHN A, et al. Genic insights from integrated human proteomics in GeneCards [J]. Database (Oxford), 2016, doi: 10.1093/database/baw030.
- [12] SZKLARCZYK D, FRANCESCHINI A, WYDER S, et al. STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life[J]. Nucleic Acids Res, 2015, doi: 10.1093/nar/gku1003.
- [13] 周晟, 陈澈, 孟庆刚. 黄连吴茱萸药对配伍结构及应用规律[J]. 中医杂志, 2017, 58(19): 1646-1649.
- [14] 许燕妮, 吴江峰, 丁舸, 等. 谈黄连、吴茱萸药对在方剂配伍中的意义[J]. 光明中医, 2018, 33(14): 2003-2004.
- [15] CHOU S T, HSIANG C Y, LO H Y, et al. Exploration of anti-cancer effects and mechanisms of Zuo-Jin-Wan and its alkaloid components *in vitro* and in orthotopic HepG2 xenograft immunocompetent mice [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1): 121.
- [16] PANDEY A, VISHNOI K, MAHATA S, et al. Berberine and curcumin target survivin and STAT3 in gastric cancer cells and synergize actions of standard chemotherapeutic 5-fluorouracil[J]. Nutr Cancer, 2015, 67(8): 1293-1304.
- [17] WANG J, YANG S, CAI X, et al. Berberine inhibits EGFR signaling and enhances the antitumor effects of EGFR inhibitors in gastric cancer [J]. Oncotarget, 2016, 7(46): 76076-76086.
- [18] PONGKITTIPHAN V, CHAVASIRI W, SUPABPHOL R. Antioxidant effect of berberine and its phenolic derivatives against human fibrosarcoma cells[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(13): 5371-5376.
- [19] CHAKRAVARTHY D, MUÑOZ A R, SU A, et al. Palmatine suppresses glutamine-mediated interaction between pancreatic cancer and stellate cells through simultaneous inhibition of survivin and COL1A1 [J]. Cancer Lett, 2018, doi: 10.1016/j.canlet.2018.01.057.
- [20] ZHANG L L, MA L N, YAN D, et al. Dynamic monitoring of the cytotoxic effects of protoberberine alkaloids from Rhizoma Coptidis on HepG2 cells using the xCELLigence system[J]. Chin J Nat Med, 2014, 12(6): 428-435.
- [21] HAMBRIGHT H G, BATH I S, XIE J, et al. Palmatine inhibits growth and invasion in prostate cancer cell: Potential role for rpS6/NF κ B/FLIP [J]. Mol Carcinog, 2015, 54(10): 1227-1234.
- [22] WU J, XIAO Q, ZHANG N, et al. Palmatine hydrochloride mediated photodynamic inactivation of breast cancer MCF-7 cells: effectiveness and mechanism of action[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2016, doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.07.006.
- [23] 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.
- [24] SHANG H S, LU H F, LEE C H, et al. Quercetin induced cell apoptosis and altered gene expression in AGS human gastric cancer cells[J]. Environ Toxicol, 2018, 33(11): 1168-1181.
- [25] MANU K A, SHANMUGAM M K, RAMACHANDRAN L, et al. Isorhamnetin augments the anti-tumor effect of capecitabine through the negative regulation of NF- κ B signaling cascade in gastric cancer [J]. Cancer Lett, 2015, 363(1): 28-36.
- [26] RAMACHANDRAN L, MANU K A, SHANMUGAM M K, et al. Isorhamnetin inhibits proliferation and invasion and induces apoptosis through the modulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ activation pathway in gastric cancer [J]. J Biol Chem, 2012, 287(45): 38028-38040.
- [27] SHIN E J, CHOI H K, SUNG M J, et al. Anti-tumour effects of beta-sitosterol are mediated by AMPK/PTEN/HSP90 axis in AGS human gastric adenocarcinoma cells and xenograft mouse models [J]. Biochem Pharmacol, 2018, doi: 10.1016/j.bcp.2018.03.010.
- [28] ZHAO Y, CHANG S K, QU G, et al. Beta-sitosterol inhibits cell growth and induces apoptosis in SGC-7901 human stomach cancer cells [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(12): 5211-5218.

[责任编辑 张丰丰]