

· 数据挖掘 ·

# 基于网络药理学的女贞子-黄芪药对的抗癌机制

庄振杰<sup>1</sup>, 李佳容<sup>1</sup>, 黄慈辉<sup>1</sup>, 谢静怡<sup>1</sup>, 刘展华<sup>2\*</sup>

(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

**[摘要]** 目的: 筛选女贞子-黄芪药对抗癌治疗的主要活性成分, 预测活性成分的作用靶点, 建立药物成分-活性成分-作用靶点网络, 进一步探讨女贞子-黄芪药对抗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)中筛选女贞子-黄芪的潜在活性成分, 采用 DisGeNET 数据库与人类孟德尔遗传数据库(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)预测和筛选其治疗癌症的作用靶点, 采用 omicshare 平台(<http://www.omicshare.com/>)对药物靶点和疾病靶点进行匹配。借助 Cytoscape 软件构建“药物-活性成分-关键作用靶点”网络。采用 String 数据库构建蛋白质相互作用网络。采用 DAVID 数据库对女贞子-黄芪关键作用靶点进行生物功能及代谢通路分析。结果: 通过筛选得到 33 个药物活性成分, 共涉及 203 个作用靶点, 与疾病靶点有关的活性成分为 14 个, 主要通过调控 ERBB2, AR, SRC, EGFR, ESR1 等靶蛋白及癌症中的蛋白多糖通路、癌症通路、癌症中的微小 mRNA(micro RNA)等通路等发挥抗癌治疗作用。结论: 女贞子-黄芪药对对癌症的治疗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]** 女贞子; 黄芪; 癌症; 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(2019)12-0195-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.20190927

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190117.0846.003.html>

**[网络出版时间]** 2019-01-17 16:24

## Molecular Mechanism of Ligustri Lucidi Fructus-Astragali Radix for Anti-cancer Based on Network Pharmacology

ZHUANG Zhen-jie<sup>1</sup>, LI Jia-rong<sup>1</sup>, HUANG Ci-hui<sup>1</sup>, XIE Jing-yi<sup>1</sup>, LIU Zhan-hua<sup>2\*</sup>

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**[Abstract]** **Objective:** To screen out active ingredients, and predict the anti-cancer targets of Ligustri Lucidi Fructus-Astragali Radix based on the "herbs-active ingredient-action targets" network. **Method:** The traditional Chinese medicine (TCM) system pharmacology platform (TCMSP) was employed to screen out the active ingredients and putative targets of anti-cancer of glossy privet fruit and astragalus. DisGeNET database and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM database) were employed to predict the targets for treating cancer, and then "herbs-active ingredients-key targets" network was constructed by using Cytoscape software. The omicshare platform was employed to match the putative targets of ingredients and the targets for treating cancer. Finally, the protein interaction network of key targets was constructed by using String database, and the analysis of biological functions and pathways of them was carried out by using DAVID database. **Result:** Totally 33 drug active ingredients were screened out, involving a total of 203 targets, and 14 of them were related to cancer. These 14 key targets played an therapeutic role in treating cancer by regulating target proteins, such as ERBB2, AR, SRC, EGFR, ESR1, as well as proteoglycans in cancer, cancer pathways, microRNAs in cancer and other pathways.

**[收稿日期]** 20180923(007)

**[基金项目]** 广东省自然科学基金项目(2017A030313731); 广东省中医药管理局科研项目(20183003)

**[第一作者]** 庄振杰, 在读硕士, 从事中西医结合防治肿瘤疾病研究, E-mail: 862376300@qq.com

**[通信作者]** \* 刘展华, 博士, 主任医师, 从事从事中西医结合防治肿瘤疾病研究, E-mail: lzhl065@163.com

**Conclusion:** The therapeutic mechanism of *Ligustri Lucidi Fructus-Astragali Radix* reflects the multi-component, multi-target, and multi-pathway characteristics of TCMs, providing the scientific basis for further study and the material basis of *Ligustri Lucidi Fructus-Astragali Radix* against cancer.

[**Key words**] *Ligustri Lucidi Fructus*; *Astragali Radix*; cancer; network pharmacology

癌症已经成为严重影响人类生命健康的常见疾病,近年来其发病率和死亡率不断呈现出上升趋势。据世界卫生组织(WHO)下属的国际癌症研究机构(IARC)最新数据显示,全球癌症负担持续增长,2018年预计将有1 810万例新发病例和960万人死亡。在地域发病情况方面,亚洲的癌症死亡数占全球57.3%,且预后差、死亡率高的癌症类型在这些地区发生率较高<sup>[1]</sup>。癌症的发病形式日益严峻,使得肿瘤的预防和治疗的社会压力和医疗压力与日俱增。中医学历史悠久,在研究肿瘤疾病发生、发展和防治规律方面已形成了特色鲜明的肿瘤学科体系,在预防肿瘤发生以及减毒增效、抗耐药、防止复发转移等方面具有明显优势,已成为防治肿瘤疾病不可或缺的重要医疗措施<sup>[2]</sup>。

女贞子为木犀科植物女贞的果实,《神农本草经》记载其药性:“主补中,安五脏,养精神,除百疾。久服肥健。”现代药理学研究其对胃、大肠、乳腺、肺、乳腺等肿瘤细胞有明显的抑制作用细胞生长及转移的抗癌作用,同时能调节癌症患者的免疫功能<sup>[3-4]</sup>。黄芪具补气升阳、益卫固表、托毒敛疮、利水消肿的功效。现代研究表明黄芪具有抗肿瘤作用,其抗肿瘤作用表现在可抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡,同时增强机体免疫功能、抑制肿瘤细胞转移等<sup>[5-6]</sup>。女贞子与黄芪及其中成药制剂广泛运用于临床抗癌治疗实践中。但其抗癌机制具体机制尚未完全阐明,由于中药治疗疾病有多成分、多靶点综合调节的作用,传统的药物逐一单体的研究方法难以体现中药治疗疾病的这一特点。网络药理学使得中药药理的研究向“多基因-多靶点-复杂疾病”的模式转变<sup>[7]</sup>。本研究采用网络药理学的方法,通过相关数据库对女贞子-黄芪药对所含的活性成分进行筛选,并将其靶点与癌症的疾病靶点进行匹配,筛选出女贞子-黄芪抗癌治疗潜在的关键作用靶点,对关键靶点进行生物信息学分析。并分别构建药物-成分-靶点网络和关键靶点蛋白网络,通过该研究,为系统性了解女贞子-黄芪药对抗癌的机制提供全面认识。

## 1 材料及方法

**1.1 女贞子与黄芪化学成分信息获取及收集** 使用TCMSP平台(version 2.3, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmssp.php>)收集黄芪、女贞子2味药物的化学成分及靶点。TCMSP是一种独特的中草药系统药理学平台,通过该平台可以获取中草药,中药成分靶点和疾病之间的关系。平台中收集了499余味草药及其化合物成分,每一化合物都具备较全面的人体吸收、分布、代谢和排泄(ADME)性质评价数据,同时平台也提供了化学成分对应的靶点及靶点对应的疾病<sup>[8]</sup>。借助TCMSP平台药物自带的药物成分筛选过滤器,设定药物成分口服生物利用度( $OB \geq 30\%$ )和类药性( $DL \geq 0.18$ )分析筛选出黄芪、女贞子中具有较好的口服生物利用度和类药性的化合物。

**1.2 女贞子与黄芪化学成分靶点的获取及收集** 将TCMSP中筛选所得的女贞子及黄芪的化学成分,借助由美国国家健康研究院(US National Institutes of Health, NIH)的有机小分子生物活性数据 PubChem 平台(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取药物成分的化学结构,并保存为Smiles格式。将所获得的化学结构进行整理并使用Swiss Target Prediction平台(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)进行药物靶点的预测。Swiss Target Prediction平台通过对所输入的药物化学成分与配体的相似度,通过交叉验证和分析排列的方式进行靶点的预测<sup>[9]</sup>。在使用过程中,将物种设置为“人类”,将平台的靶点预测结果进行收集整理。

**1.3 疾病靶点的获取及收集** DisGeNET是一个综合的基因-疾病相关关系数据库,它集成多个数据的文献,并且采用文本挖掘技术对遗传疾病、复杂疾病和环境性疾病进行了相关性分析,使用者可通过输入特定基因获取与基因相关的疾病信息,或输入疾病名称获得与该疾病相关的基因<sup>[10]</sup>。人类在线孟德尔遗传平台(OMIM, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>)是一个由NCBI的支持维护数据库,数据库中记录所有已知疾病的遗传成分,并预测它们与人类基因组中相关基因的关系,并为进一步研究和基因组分析工具提供参考<sup>[11]</sup>。使用这两个数据库通过输入关键词“cancer”“tumor”“neoplasm”获取与癌症相关靶标基因,合并2个数据库所获得的数据,删除重复和假阳性的基因,最后使用omicshare

平台 (<http://www.omicsshare.com/>) 将药物成分相关的靶点和疾病靶点进行匹配映射,并绘制维恩图获得女贞子-黄芪活性成分的潜在抗癌作用靶点。

**1.4 药物-活性成分-关键靶点网络的构建** 将女贞子-黄芪的活性成分所对应的靶点基因和癌症相关的靶标基因进行匹配,获得两者的共同基因,即为女贞子-黄芪抗癌的关键靶点。使用 Cytoscape 软件 (Version 3.6.1, <http://www.cytoscape.org>) 构建药物-活性成分-关键靶点基因关系网络。网络中节点 (node) 代表女贞子 (NZZ)-黄芪 (HQ) 药种、药物活性成分与关键靶点基因;网络中边 (edge) 用来连接单位药与活性成分、活性成分与关键靶点基因。整个网络展示药物-活性成分-靶点之间的联系,通过构建这一网络探析女贞子-黄芪抗癌的作用机制。

**1.5 关键靶点蛋白相关作用网络的构建** STRING 数据库 (<https://string-db.org/Version 10.5>) 是用于预测的蛋白质-蛋白质相互作用的生物学数据库,其数据来自众多来源的信息,包括实验数据,计算预测方法和公共文本集,可用于检索蛋白/基因相互作用<sup>[12]</sup>。将女贞子-黄芪关键靶点导入 String 数据库,将研究物种为选择为人类,获得蛋白互作关系,将结果以 TSV 格式导出。将所得数据导入 Cytoscape 软件进行可视化,绘制蛋白相互作用网络图。设置网络中节点大小和颜色深浅反映 Degree 值大小,边的粗细反映 Combine score 大小。

**1.6 关键靶点生物功能注释及通路分析及可视化** DAVID 是一个生物信息数据库,其中整合了生物学数据和分析工具,为大规模的基因或蛋白列表 (成百上千个基因 ID 或者蛋白 ID 列表) 提供系统综合的生物功能注释信息,并可进行基因本体 (GO) 分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析,借此挖掘特定基因或蛋白的生物学意义<sup>[13]</sup>。将关键靶点基因输入 David 数据库功能注释工具中 (Version 6.8 <https://david.ncifcrf.gov/>), GO 富集分析选择生物过程 (biological process), 分子功能 (molecular function), 和细胞组成 (cellular component) 3 个模块,通路分析选择 KEGG, 设定  $P < 0.05$  以确定关键靶点富集通路。使用 OriginPro 9.5 将图富集结果绘制成条形图。

## 2 结果

**2.1 女贞子-黄芪活性成分的筛选** 通过 TCMSPP 数据库检索的黄芪化学成分 87 个,女贞子化学成分 119 个,通过  $OB \geq 30\%$  和  $DL \geq 0.18$  进一步筛选得到黄芪的潜在活性成分 20 个,女贞子潜在活性成分

13 个,见表 1。

表 1 女贞子-黄芪中潜在活性成分及其 OB 和 DL 值

Table 1 Potential active compounds in NZZ-HQ with OB and DL parameters

分子 ID	分子名称	口服利用度 / %	类药比	药材归属
MOL000398	isoflavanone	109.99	0.30	黄芪
MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.30	黄芪
MOL000392	formononetin	69.67	0.21	黄芪
MOL000433	FA	68.96	0.71	黄芪
MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26	黄芪
MOL000380	(6aR, 11aR)-9, 10-dimethoxy-6a, 11a-dihydro-6H-benzofurano [3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42	黄芪
MOL000211	mairin	55.38	0.78	黄芪
MOL0003713	9-di-O-methylnissoilin	53.74	0.48	黄芪
MOL000239	jaranol	50.83	0.29	黄芪
MOL000354	isorhamnetin	49.6	0.31	黄芪
MOL000439	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole	49.28	0.62	黄芪
MOL000417	calycosin	47.75	0.24	黄芪
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	黄芪
MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	黄芪
MOL000374	5'-hydroxyiso-muronulatol-2', 5'-di-O-glucoside	41.72	0.69	黄芪
MOL000442	1, 7-dihydroxy-3, 9-dimethoxy pterocarpene	39.05	0.48	黄芪
MOL000296	hederagenin	36.91	0.75	黄芪
MOL000379	9, 10-dimethoxypterocarpan-3-O-β-D-glucoside	36.74	0.92	黄芪
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	黄芪
MOL000387	bifendate	31.1	0.67	黄芪
MOL000006	luteolin	36.16	0.25	女贞子
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	女贞子
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	女贞子
MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	女贞子
MOL004576	taxifolin	57.84	0.27	女贞子
MOL005146	lucidumoside D	48.87	0.71	女贞子
MOL005147	lucidumoside D	54.41	0.47	女贞子
MOL005169	(20S)-24-ene-3β,20-diol-3-acetate	40.23	0.82	女贞子
MOL005190	eriodictyol	71.79	0.24	女贞子
MOL005195	syringaresinol diglucoside_qt	83.12	0.8	女贞子
MOL005209	lucidusculine	30.11	0.75	女贞子
MOL005211	olitoriside	65.45	0.23	女贞子
MOL005212	olitoriside	103.23	0.78	女贞子

## 2.2 女贞子-黄芪成分抗癌的潜在作用靶点预测

将女贞子-黄芪成分的分子 Smiles 格式上传到 Swiss Target Prediction 平台,得到黄芪活性成分作用靶点 199 个,女贞子活性成分靶点 166 个,去除重复靶点后得到黄芪活性成分作用靶点 102 个,女贞子活性成分靶点 101 个。通过 DisGeNET 平台和 OMIM 平台共收集癌症相关靶点基因共 1 078 个,合并去重后最终获得疾病靶点基因 749 个。使用 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维恩图(图 1),获得共同基因 14 个,其中归属于黄芪的有 11 个,分别为 AKR1B1, AKR1B10, CYP19A1, CYP1A1, EGFR, ERBB2, ESR1, MET, MPO, SRC, TOP2A;归属于女贞子的有 9 个,分别为 AKR1B1, EGFR, ERBB2, MPO, AR, CYP19A1, ESR1, STAT3, PRKCA;两者间共同靶点为 6 个,分别为 AKR1B1, CYP19A1, EGFR, ERBB2, ESR1, MPO。提示女贞子与黄芪在抗癌治疗过程中既有自己关键作用靶点可单独发挥作用,又有共同的作用靶点,两药可协同发挥抗癌作用。

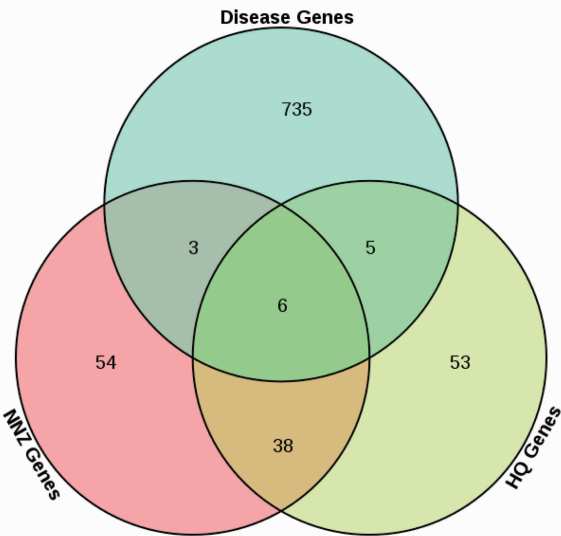


图 1 疾病靶点基因与女贞子-黄芪靶点基因的匹配  
Fig.1 Matching of target genes between disease and NZZ-HQ

## 2.3 药物-活性成分-关键作用靶点网络构建与分析

将女贞子-黄芪两味药物与其 33 个活性成分, 14 个关键靶点基因导入 Cytoscape 软件进行网络构建及可视化(图 2)。结果表明,女贞子-黄芪 33 个成分,直接与关键靶点基因相连的有 16 个。其中熊竹素(jaranol),异鼠李素(isorhamnetin),毛蕊异黄酮(calycosin),槲皮素(querctetin), $\beta$ -谷甾醇(beta-sitosterol),芒柄花素(formononetin)6 个成分能与 3 个及以上的关键靶点基因相连。其中连接度前 5 的

关键靶点基因为 AKR1B10, EGFR, CYP19A1, ESR1, AKR1B1。表明以上成分及基因是女贞子-黄芪抗癌治疗的重要成分及重要靶点基因,在女贞子-黄芪药对治疗癌症中有重要意义。

## 2.4 关键靶点基因蛋白质相互作用网络分析

将女贞子-黄芪抗癌治疗的 14 个潜在的关键靶点基因导入 String 数据库获取蛋白质相互作用关系,再将获得数据导入 Cytoscape 软件绘制蛋白关系网络(图 3)。该网络图共包括 13 个节点,37 个边。其中 MPO 为在 String 数据库中找到,故该蛋白未在网络中体现。以 Degree 数值反映节点的大小,节点的 Degree 数值越大,节点越大。以 Combine score 反映节点连接之间边的粗细。Combine score 越大,边越粗。其中 Degree 数值前 5 名的靶点基因为 ERBB2, AR, SRC, EGFR, ESR1,表明这些基因在网络中具有重要地位,这些靶点基因在女贞子-黄芪抗癌治疗中具有重要意义,可作为女贞子-黄芪药对有效成分作用的靶点基因。

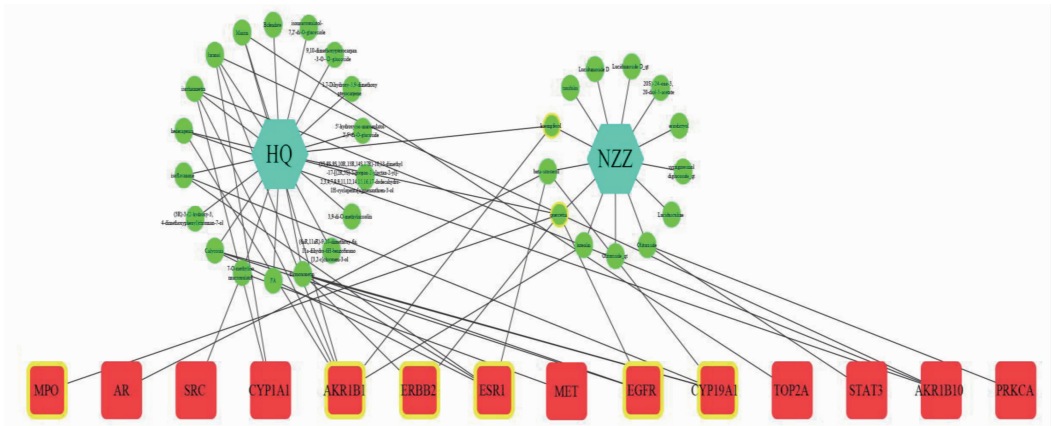
## 2.5 关键靶点基因生物功能及通路分析

GO 注释结果显示,女贞子-黄芪的 14 个潜在关键靶点基因的富集的前 10 个生物学功能主要为信号转导(7 个靶点),细胞增殖(6 个靶点),RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控(5 个靶点),DNA 模板转录(4 个靶点),DNA 模板转录的正调控(4 个靶点),肽基酪氨酸磷酸化(4 个靶点),细胞增殖的正向调节(3 个靶点),凋亡过程的负调节(3 个靶点),基因表达的正调节(3 个靶点)(图 4)。表明女贞子-黄芪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,女贞子-黄芪的关键基因靶点主要富集的通路为癌症中的蛋白多糖通路、癌症通路,癌症中的 micro RNA 通路,细胞的焦点黏连,细胞的黏着连接,细胞内吞, Rap1 信号通路,雌激素信号通路, HIF-1 信号通路, ERBB 信号通路等,并与前列腺癌,胰腺癌、膀胱癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌、子宫内膜癌等癌肿密切相关,表明黄芪-女贞子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),同时女贞子-黄芪药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女贞子-黄芪药对抗癌疗效的重要方向。

## 3 讨论

癌症的发生发展与正邪变化密切相关,扶正法在抗癌治疗中具有重要的意义。女贞子-黄芪作为 2 味常用扶正中药,广泛运用于中医防治肿瘤疾病



NZZ. 女贞子; HQ. 黄芪; 青色节点代表药物; 绿色节点. 药物成分; 红色节点. 关键作用靶点; 黄色框. 两者共有的药物活性成分或关键作用靶点  
图 2 女贞子-黄芪药物、活性成分与关键作用靶点网络

Fig. 2 Drug-component-target network of active ingredients of NZZ-HQ

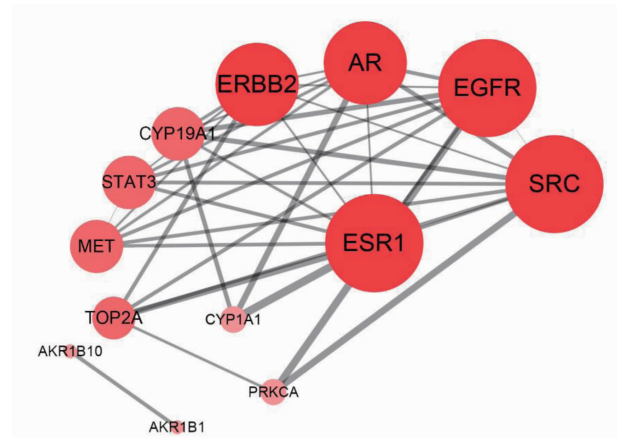


图 3 女贞子-黄芪的蛋白质相互作用网络

Fig. 3 Protein interaction network of NZZ-HQ

的临床实践中,其中成药制剂贞芪扶正胶囊、贞芪扶正颗粒、贞芪扶正分散片在联合化疗治疗肿瘤也得到广泛使用。目前大量研究认为女贞子-黄芪药对

及其制剂在提高非小细胞肺癌、胃癌等肿瘤治疗有效率、调节患者机体免疫功能,降低放疗化疗毒副作用,改善患者预后方面有着显著的作用<sup>[14-21]</sup>。

本研究中药物-成分-靶点网络显示,黄芪主要活性成分异鼠李素(isorhamnetin),毛蕊异黄酮(calycosin),芒柄花素(formononetin),女贞子的主要活性成分 $\beta$ -谷甾醇(beta-sitosterol)及槲皮素(querctin)为网络中的重要节点,提示他们在女贞子-黄芪药对发挥抗癌治疗功效中发挥着重要作用,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。研究表明异鼠李素具有抑制 Lewis 肺癌细胞、乳腺癌细胞、人宫颈癌 HeLa 细胞等肿瘤细胞并诱导其凋亡<sup>[22]</sup>,也可通过抑制磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)通路激活进而促进 Bax 基因表达而发挥抑制膀胱癌 T24 细胞增殖并诱导其凋亡的作用<sup>[23]</sup>。芒柄花素对乳腺癌

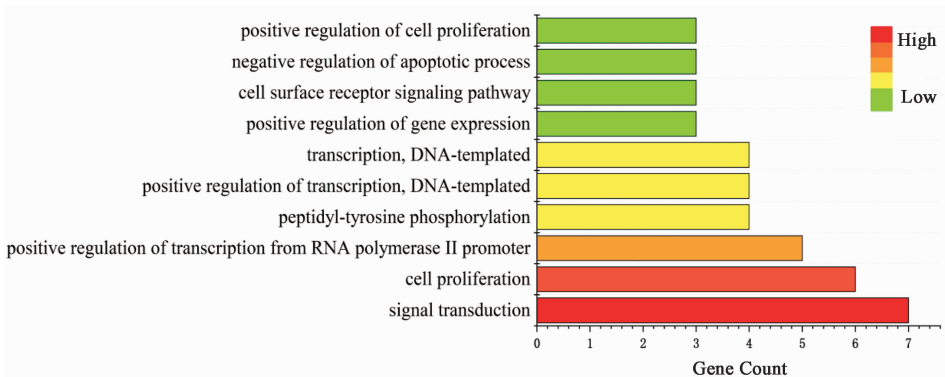


图 4 女贞子-黄芪活性成分抗癌关键靶点的 GO 生物学过程富集分析

Fig. 4 Enrichment analysis on GO biological processes of key targets from active ingredients of NZZ-HQ

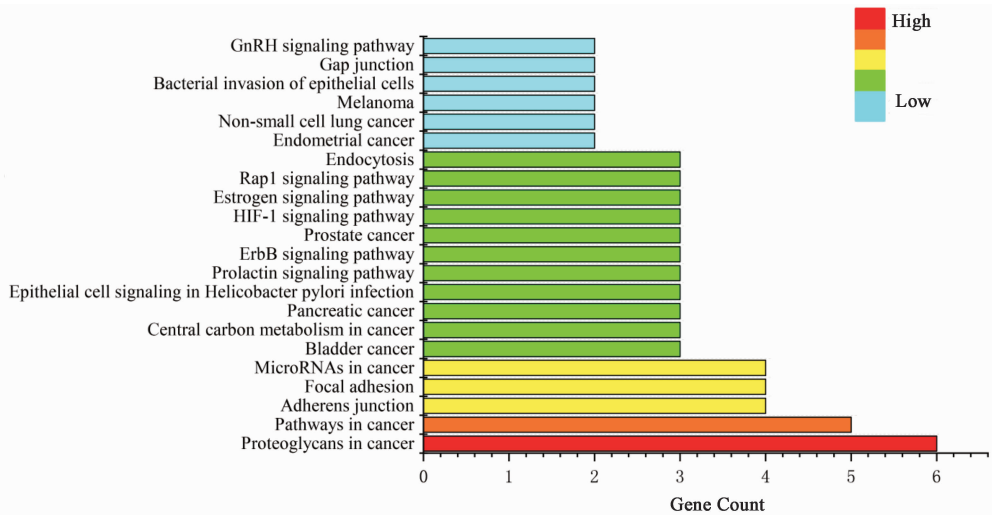


图 5 女贞子-黄芪活性成分抗癌关键靶点的 KEGG 代谢通路富集分析

Fig. 5 Enrichment analysis on KEGG pathways of key targets from main active ingredients of NZZ-HQ

及非小细胞肺癌发生发展具有抑制作用。芒柄花素可将细胞周期阻滞于 G<sub>1</sub> 期从而抑制乳腺癌细胞增殖<sup>[24]</sup>, 可通过抑制 Akt 磷酸化从而阻断 PI3K/Akt 信号转导有道不同乳腺癌细胞的凋亡<sup>[25]</sup>; 芒柄花素还可通过下调细胞周期蛋白 E<sub>1</sub> (cyclin E<sub>1</sub>) 表达而影响细胞周期, 并通过调控 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) Bcl-2 和 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 表达而促使非小细胞肺癌细胞凋亡的发生<sup>[26]</sup>。

女贞子活性成分 β-谷甾醇可通过线粒体途径及膜死亡受体途径及将细胞周期阻滞在 G<sub>2</sub>/M 期抑制肝癌 HepG2 细胞生长促进其凋亡<sup>[27]</sup>; β-谷甾醇还能够提高 NK 细胞对胰腺癌细胞的杀伤能力、可增强人体外周血单核细胞其对胃癌细胞的杀伤活性<sup>[28]</sup>, 也可通过上调 p53, Bax 基因表达而诱导肺癌细胞的凋亡性死亡<sup>[29]</sup>; 槲皮素在体外可抑制乳腺癌、肝癌、前列腺癌、肺癌、宫颈癌以及食管癌等多种肿瘤细胞的增殖与转移, 诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[30]</sup>。其主要的作用机制包括调节细胞周期、降低氧化应激反应、抑制耐药基因表达, 抑制肿瘤组织血管内皮生长因子 (VEGF) 表达, 上调半胱氨酸蛋白酶-3 (Casepase-3) 蛋白表达, 抑制 Akt 信号通路促进凋亡发生等有关<sup>[31-32]</sup>。以上结果说明女贞子-黄芪药对可通过多成分、多靶点的协同作用而充分发挥抗癌作用, 为中药单体抗癌药物的研发提供了新线索, 同时熊竹素 (jaranol) 的抗癌作用目前还鲜有报道, 可作为未来进一步研究的方向。

本研究通过药物靶点与疾病靶点的匹配及网络的构建, 获得到女贞子-黄芪药对抗癌治疗的关键

靶点基因共 14 个, 其中黄芪 11 个, 女贞子 9 个, 两者共有的关键靶点有 6 个, 进一步的蛋白质相互作用网络分析显示 ERBB2, AR, SRC, EGFR, ESR1 这 5 关键靶点在网络中具有重要地位, 提示其可作为女贞子-黄芪药对抗癌治疗的重要靶点。KEGG 通路富集分析显示, 关键靶点主要与前列腺癌、胰腺癌、膀胱癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌、子宫内膜癌等肿瘤密切相关, 这与目前对这些靶点基因的相关研究结果及上述药物活性成分所能作用的癌症类型基本一致。

ERBB2 基因可表达 p185 蛋白, p185 蛋白与表皮生长因子受体 (EGFR) 有高度的同源性, 它可通过与特定配体的结合, 从而增加蛋白激酶的活性, 促进细胞的分裂、增殖和转化, 并且其表达与肺癌、乳腺癌、胃癌、食道癌、宫颈癌等癌症的发生发展有关<sup>[33-34]</sup>; 表皮生长因子受体 (EGFR) 基因的活化可参与丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 通路及 PI3K/Akt 等通路的信号传导, 引起细胞的增殖分化, 其突变及异常表达则与非小细胞肺癌、头颈部肿瘤、膀胱、卵巢等肿瘤的发生及进展有关<sup>[35-37]</sup>; 雄激素受体 (AR) 高度表达于睾丸、前列腺、卵巢、脂肪等组织中, 目前研究认为 AR 主要与膀胱癌、前列腺癌的发生发展密切相关<sup>[38-39]</sup>; Src 蛋白是一种由原癌基因 C-Src 编码的蛋白, 该蛋白可通过 MAPK 通路, PI3K/Akt 信号通路介导调节细胞的黏着与运动、增殖、存活、血管收缩及胞吞等生理过程<sup>[40]</sup>; 雌激素受体 1 (ESR1) 基因与乳腺癌的发生发展关系密切, ESR1 可通过与雌激素结合而促进乳腺癌细胞的生长<sup>[41]</sup>。本研究显示女贞子-黄芪的成分关键靶点富集的癌

症类型与目前药物成分及关键靶点的相关研究所重合癌症类型为非小细胞肺癌、膀胱癌、胰腺癌、前列腺癌,同时本研究中药物关键靶点还富集于黑色素瘤、子宫内膜癌,这提示这些癌症类型可作为未来研究女贞子-黄芪药对抗癌疗效的重要病种,也暗合中医学“异病同治”的思想,值得进一步研究。

GO 注释结果显示,关键靶点涉及的生物学过程主要为信号转导、细胞增殖, RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、细胞增殖的正向调节、凋亡过程的负调节、基因表达的正调节等。这些生物学过程在药物活性成分抗癌机制的发挥及靶点所涉及的通路都有所体现。此外,本研究中药物关键靶点主要富集的通路为癌症中的蛋白多糖通路、癌症中的 micro RNA 通路、细胞的焦点黏连、细胞的黏着连接、细胞内吞, ERBB 信号通路, Rap1 信号通路<sup>[42]</sup>, 雌激素信号通路<sup>[43]</sup>, HIF-1 信号通路<sup>[44]</sup>等。这些通路都与癌症的形成与发展密切相关,通路富集的结果表明女贞子-黄芪药对的活性成分作用的关键靶点分布于不同的通路,可通过各通路协调发挥抗癌作用,这些通路都可以作为未来的进一步研究的方向。

综上所述,本研究应用网络药理学方法,对女贞子-黄芪药对的多成分、多靶点与多种疾病间复杂网状关系进行研究。研究结果表明了女贞子-黄芪药对主要潜在活性成分及作用靶点、作用病种及相关通路,为进一步深入探讨其作用机制提供了新思路,但具体结果也仍需进一步的基础及临床研究验证。

#### [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] 王辉,孙桂芝,花宝金. 中医药防治肿瘤的源流、现状和发展趋势[J]. 中华中医药学刊, 2012,30(9):1973-1975.

[3] 秦红霖,高月. 女贞子化学成分及药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2007,18(1):84-85.

[4] 刘亭亭,王萌. 女贞子化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014,20(14):228-234.

[5] 邓晓霞,李清宋,陈中,等. 黄芪抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2016,27(2):307-312.

[6] 胡兵,沈克平. 黄芪抗肿瘤作用及机制研究[J]. 中药材, 2008,31(3):461-465.

[7] Hopkins A L. Network pharmacology [J]. Nature

Biotechnol, 2007,25(10):1110-1111.

[8] RU J, LI P, WANG J, et al. TC MSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Chem, 2014,6(1):13.

[9] Gfeller D, Grosdidier A, Wirth M, et al. Swiss Target Prediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules [J]. Nucleic Acids Res, 2014,42(Web + Server):32-38.

[10] Piñero J, Queralt-Rosinach N, Bravo à, et al. DisGeNET: a discovery platform for the dynamical exploration of human diseases and their genes [J]. Database, 2015,2015(3):28.

[11] Hamosh A, Scott A F, Amberger J, et al. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders [J]. Nucl Acids Res, 2005,33(1):514-517.

[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, 2015,43(Database issue):447.

[13] HUANG D W, Sherman B T, Lempicki R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. Nature Protocols, 2009,4(1):44-57.

[14] 陈天君, Thakar A, 陈明伟. GP 化疗联合贞芪扶正胶囊治疗 NSCLC 的临床观察[J]. 时珍国医国药, 2012,23(9):2264-2265.

[15] 景明,李沛清,刘俊田,等. 贞芪扶正分散片对肿瘤化疗的增效和减毒作用研究[J]. 时珍国医国药, 2010,21(3):604-605.

[16] 付廷雄,唐求,聂彬. 贞芪扶正胶囊配合放疗治疗老年晚期非小细胞肺癌[J]. 药物流行病学杂志, 2008,17(1):4-6.

[17] 舒文,于廷和. 贞芪扶正胶囊在卵巢癌化疗并发症预防中的效果观察[J]. 中药药理与临床, 2016,32(6):201-204.

[18] 张海平,赵慧峰,夏红蕾. 贞芪扶正颗粒辅助治疗宫颈癌的临床观察[J]. 中国药房, 2017,28(9):1174-1177.

[19] 郑方,孙志强. 贞芪扶正颗粒联合达沙替尼治疗 BCR-ABL 阳性白血病的临床观察[J]. 中国药房, 2016,27(18):2482-2484.

[20] 李科,张旭. 贞芪扶正颗粒联合替吉奥胶囊治疗老年人晚期贲门癌的临床研究[J]. 中华老年医学杂志, 2014,33(12):1314-1316.

[21] 刘焕龙,陈雪彦,苏素文,等. 注射用贞芪扶正对环磷酰胺的增效减毒作用研究[J]. 中药药理与临床, 2008,24(4):50-52.

- [22] 张冬梅. 毛蕊异黄酮-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡及 Bcl-2/Bax 表达的影响[J]. 中草药, 2015, 46(10):1498-1502.
- [23] 辛敏, 陈健, 郭艳红. 毛蕊异黄酮对膀胱癌细胞凋亡和 PI3K/Akt 信号通路的影响[J]. 广东医学, 2015, 36(5):690-693.
- [24] 周瑞娟, 陈红凤, 叶媚娜, 等. 芒柄花素对不同亚型乳腺癌细胞增殖及细胞周期的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(9):1051-1055.
- [25] 盛佳钰, 陈红凤. 芒柄花素联合 MK2206 对不同亚型乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(13):998-1003.
- [26] 李自全, 孟祥娇. 芒柄花素对人非小细胞肺癌细胞增殖、凋亡的影响及相关机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20):138-142.
- [27] 张忠泉, 邢煜君, 胡国强, 等.  $\beta$ -谷甾醇诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡机制研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(15):2145-2148.
- [28] 王娟, 刘军权, 陈复兴, 等.  $\beta$ -谷甾醇对人共刺激细胞杀伤胃癌 SGC-7901 细胞的影响及其机制的探讨[J]. 免疫学杂志, 2014, 30(7):578-584.
- [29] 周玲玉.  $\beta$ -谷甾醇对人肺癌细胞增殖、凋亡影响的初步研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2016.
- [30] 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.
- [31] 刘明学, 魏光辉. 槲皮素的药理学作用及临床应用前景[J]. 中国药房, 2010, 21(27):2581-2583.
- [32] 孙阳, 于水澜, 吴勃岩, 等. 槲皮素自微乳的抗肿瘤作用及其机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(14):97-101.
- [33] 仇丽红, 赵梅香, 黄洁, 等. C-erbB2 基因生物学特性研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2007, 15(1):102-105.
- [34] 牟兆新, 侯振江. C-erbB2 基因在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2006, 9(1):4-6.
- [35] Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(14):2787-2799.
- [36] Nicholson R I, Gee J M, Harper M E. EGFR and cancer prognosis[J]. Europ J Cancer, 2001, 37(14):9-15.
- [37] Kobayashi S, Boggon T J, Dayaram T, et al. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib[J]. N Engl J Med, 2005, 352(8):786-792.
- [38] TENG X Y, LIU G Q, DIAO X L, et al. CAG repeats in the androgen receptor gene are shorter in patients with pulmonary, esophageal or bladder carcinoma and longer in women with uterine leiomyoma [J]. Oncol Rep, 2010, 23(3):811-818.
- [39] Koochekpour S. Androgen receptor signaling and mutations in prostate cancer[J]. Asian J Androl, 2010, 12(5):639-657.
- [40] 杜晓煜, 唐丹凤, 郑莉萍, 等. 原癌基因 c-src 相关信号通路的研究进展[J]. 生殖与避孕, 2010, 30(4):269-273.
- [41] Wooster R, Stratton M R. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13[J]. Science, 1994, 265(5181):2088-2090.
- [42] 高雅茹, 郝敏. Rap1 在妇科恶性肿瘤中的研究进展[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2016, 10(9):1308-1311.
- [43] 陈安安, 汪炬. 肿瘤中雌激素信号转导通路的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(3):570-576.
- [44] 郭树鹏, 杨柳, 张莉琳, 等. HIF-1 $\alpha$  信号通路在肿瘤细胞调控中的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(16):3145-3148.

[责任编辑 张丰丰]