

# 基于网络药理学探讨华蟾素抗肿瘤的作用机制

★ 罗飞凤<sup>1</sup> 侯恩存<sup>2</sup> 郑景辉<sup>2</sup> 唐友明<sup>2</sup> 吴竞<sup>1</sup> 熊佳惠<sup>1</sup> 卢岳虹<sup>1</sup> (1. 广西中医药大学研究生院 南宁 530001; 2. 广西中医药大学附属瑞康医院 南宁 530011)

[摘要] 目的: 利用网络药理学分析方法, 建立华蟾素抗肿瘤的“成分-靶点-通路”网络, 并探究其潜在作用机制。方法: 借助于 CTD 数据库寻找华蟾素抗肿瘤的潜在蛋白靶点, 并通过 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 数据库对获取的靶点进行相关通路分析, 进一步利用 Cytoscape3.7.0 软件构建华蟾素的“成分-靶点-通路”网络关系图。结果: 数据分析结果表明, 华蟾素药物活性成分共 30 个, 潜在作用蛋白靶点 7 个以及与肿瘤相关的 KEGG 通路 15 条。华蟾素抗肿瘤作用于 BAX、BID、CASP9 以及 FAS 等靶蛋白。其中, 有 6 个蛋白靶点作用于 p53 信号通路、6 个蛋白靶点作用于癌症通路, 3 个蛋白靶点作用于结直肠癌信号通路。结论: 华蟾素在结直肠癌、非小细胞肺癌、前列腺癌等肿瘤以及抑癌通路、肿瘤坏死因子通路等方面均发挥重要作用。本研究为中医药在肿瘤靶向治疗、药理研究及临床应用可提供一定的理论基础。

[关键词] 网络药理学; 华蟾素; 抗肿瘤; 作用机制

中图分类号: R285.5 文献标识码: A

## Study on Mechanism of Cinobufotalin of Anti-Tumor Based on Network Pharmacological

LUO Fei-feng<sup>1</sup>, HOU En-cun<sup>2</sup>, ZHENG Jing-hui<sup>2</sup>, TANG You-ming<sup>2</sup>, WU Jing<sup>1</sup>, XIONG Jia-hui<sup>1</sup>, LU Yue-hong<sup>1</sup>

1. Graduate School of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

2. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, China.

[Abstract] **Objective:** To establish an anti-tumor component-target-pathway network of cinobufotalin and explore its potential mechanism by means of network pharmacological analysis. **Methods:** Potential anti-tumor protein targets of cinobufotalin were identified by CTD database, and related pathways were analyzed by Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) database. Cytoscape 3.7.0 software was used to construct the "component-target-pathway" network diagram of cinobufotalin. **Results:** Data analysis showed that there were 30 active ingredients, 7 potential protein targets and 15 KEGG pathways related to cancer. Cinobufotalin acts on target proteins such as BAX, BID, CASP9 and FAS. Among them, 6 protein targets act on p53 signaling pathway, 6 protein targets act on cancer signaling pathway, and 3 protein targets act on colorectal cancer signaling pathway. **Conclusions:** Cinobufotalin plays an important role in colorectal cancer, non-small cell lung cancer, prostate cancer, tumor suppressor pathway and tumor necrosis factor pathway. This study provides a theoretical basis for the targeting therapy, pharmacological research and clinical application of traditional Chinese medicine in cancer.

[Key words] Network Pharmacology; Cinobufotalin; Anti-cancer; Mechanism of Action

华蟾素 (Cinobufotalin) 为我国传统中药中华大蟾蜍或黑眶蟾蜍等干皮提炼出的有效成分。蟾蜍作为药物治疗疾病由来已久, 其药性理论记载, 首见于我国第一部药物学专著《神农本草经》“蝮蝮, 味辛、寒, 主邪气, 破癥坚血, 痈肿, 阴疮, 服之不患热病”。蟾皮单独入药, 始见于《木经逢原》“蟾皮, 辛、凉, 微毒”。“蟾蜍”之名, 首见于《名医别录》, 陶弘景注云, 蝮蝮“一名蟾蜍”。蟾蜍药性辛、凉, 归心、肝、脾、肺经。当代本草学巨著《中

华本草》记载: 蟾蜍“味辛、性凉, 有毒。归心、肝、脾、肺经”, 能“解毒散结, 消积利水, 杀虫消痞。主治痈疽、疔疮、发背、瘰疬、恶疮、癥瘕癖积、臃胀、水肿、小儿疳积、破伤风、慢性哮喘”, 并进一步指出“蟾蜍还被应用于肿瘤治疗, 对胃癌、食管癌、膀胱癌、肝癌、白血病有一定疗效”。现代药理学研究发现华蟾素的主要生物活性成分为蟾毒内酸类, 如蟾酥毒素、脂蟾配基、华蟾素毒基等<sup>[1]</sup>。华蟾素因其具有低毒、高效, 并且对多种肿瘤都具

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81360535); 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科攻 1598012-55)。

通信作者: 侯恩存, 主任医师、教授。E-mail: houec2008@sina.com。

有良好的治疗效果而受到国内外研究人员的广泛关注。

网络药理学以系统生物学和多向药理学为理论基础,构建“成分-靶点-通路-疾病”之间的网络关系探讨药物的作用机制<sup>[2]</sup>。本研究使用网络药理学方法,以多成分-多靶点-多通路调控的思维为基础,通过构建“成分-靶点-通路-”网络研究华蟾素对肿瘤的作用机制,为临床工作提供一定的指导依据。

## 1 材料和方法

**1.1 数据库检索** 本研究涉及到的数据库包括: Drugbank([www.drugbank.ca/](http://www.drugbank.ca/)); Batman(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>); CTD(<http://ctdbase.org/>); uniprot(<https://www.uniprot.org/>); STRING(<https://string-db.org/>); Omicshare(<http://www.omicshare.com/>); cytoscape3.7.0(<http://www.cytoscape.org/>)。

**1.2 华蟾素药物活性成分及相关蛋白的收集** 在 CTD(<http://ctd.mdibl.org/>)、Drugbank([www.drugbank.ca/](http://www.drugbank.ca/)) 以及 Batman(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>) 数据库,并筛选出符合条件的药物活性成分,并收集合并去重。再通过 CTD(<http://ctdbase.org/>) 数据库、OMIM(<http://www.omim.org/>) 数据库输入相关检索式检索得到华蟾素药物活性成分的相关蛋白,即该药物的潜在抗肿瘤靶点。

**1.3 制作华蟾素药物活性成分蛋白互作网络图** 将 1.2 中收集到的相关蛋白利用 STRING(<https://string-db.org/>) 在线平台制作蛋白互作网络图,并以 tsv 格式导入 cytoscape3.7.0(<http://www.cytoscape.org/>) 对该蛋白互作图进行可视化处理及分析。

**1.4 华蟾素抗肿瘤相关通路图** 为了解华蟾素发挥抗肿瘤功效的作用机理,利用京都基因与基因组百科全书(the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG, <http://www.genome.jp/kegg/>) 通路数据库以及 KOBAS3.0 平台软件制作通路图,并筛选出具有抗肿瘤作用的相关通路,然后进行通路注释和分析。

**1.5 制作成分-靶点-通路图** 将上述步骤中得到的药物活性成分、相关蛋白靶点以及信号通路共同导入 cytoscape3.7.0(<http://www.cytoscape.org/>) 软件,以节点(node)表示成分、靶点和通路,边(edge)表示两者之间的相互作用,构建并绘制出成分-靶点-通路网络关系图。

## 2 结果

**2.1 华蟾素药物活性成分及相关蛋白靶点的收集**

结果 通过 CTD 数据库搜索关键词“Cinobufotalin”,并将 Drugbank、Batman 数据库的搜索结果进一步筛选合并,得到华蟾素药物活性成分共 30 个,再利用 CTD 数据库进一步预测出华蟾素潜在抗肿瘤相关靶点蛋白, BAX、BID、CASP2、CASP3、CASP8、CASP9、FAS 共 7 个。成分及蛋白靶点,见表 1。

表1 华蟾素药物活性成分及相关蛋白靶点

药物活性成分	相关蛋白靶点
thiosulfenic acids	BAX BID CASP3 CASP8 CASP9
(2)-5,6,7,8,4'-pentamethoxyflavanone	BAX BID CASP3 CASP8 CASP9
clavulone II	BAX BID CASP3 CASP8 CASP9
1,4-anthraquinone	CASP2 CASP3 CASP8 CASP9
3,4-dideoxyglucosone-3-ene	BAX BID CASP3 CASP9
5-methylselenylmethyl-1-2'-deoxyuridine	BAX BID CASP2 CASP3 CASP8 CASP9
5-phenylselenylmethyl-1-2'-deoxyuridine	BAX BID CASP2 CASP3 CASP8 CASP9
6(hydroxymethyl)-1,4-anthracenedione	CASP2 CASP3 CASP8 CASP9
CFM 1	CASP2 CASP3 CASP8 CASP9
codonoposide	BAX BID CASP3 CASP8 CASP9
paederosidic acid	BAX BID CASP3 CASP8 CASP9
suillin	BID CASP3 CASP8 CASP9 FAS
echinocystic acid	BAX BID CASP3 CASP8 CASP9
N,N-dimethylphytyosphingosine	BAX BID CASP3 CASP8 CASP9
(4,4-dimethyl-2,2-bipyridine)(acetylacetonate)	BAX BID CASP3 CASP8
copper(II)	BAX CASP3 CASP8 CASP9
alborixin	BAX CASP3 CASP8 CASP9
gardenin B	CASP2 CASP3 CASP8 CASP9
grifolin	BAX CASP3 CASP8 CASP9
pramanicin	BAX BID CASP3 CASP9
28-deoxonimbolide	CASP3 CASP8 CASP9
2-amino-3-hydroxy-2-hydroxymethylpropyl-3-acetylbutelinoate	CASP3 CASP8 CASP9
3,4-methylenedioxypropylvalerone	CASP3 CASP8 CASP9
4-methylethcathinone	CASP3 CASP8 CASP9
azadiradione	CASP3 CASP8 CASP9
benzoylcarbonyl-valyl-aspartyl-valyl-alanyl-aspartyl-fluoromethyl ketone	BAX BID CASP2 CASP3 CASP8 CASP9
carboxycinnamic acid	BAX BID CASP2 CASP3 CASP8 CASP9
bishydroxamide	BAX BID CASP2 CASP3 CASP8 CASP9
pentedrone	CASP3 CASP8 CASP9
sodium cyanate	CASP2 CASP3 CASP9
spiruchostatin B	BID CASP3 CASP8
violacein	CASP2 CASP3 CASP9

**2.2 华蟾素抗肿瘤相关蛋白互作网络图构建及分析** 为进一步说明华蟾素相关蛋白靶点的相互作用机制,通过 STRING 在线平台,设定为人

源相关性 (Homo sapiens), 导入上述相关蛋白靶点制作蛋白-蛋白相互作用网络图。然后利用 cytoscape3.7.0 软件对该网络互作图进行可视化处理和分析。分析结果显示, 蛋白互作网络图中共有 7 个节点 (Node), BAX、BID、CASP2、CASP3、CASP8、CASP9 以及 FAS, 即 7 个相关蛋白靶点, 有 42 条边 (Edge), 即 42 条相互作用关系, 发现各相关蛋白靶点之间均具有紧密的联系, 见图 1。

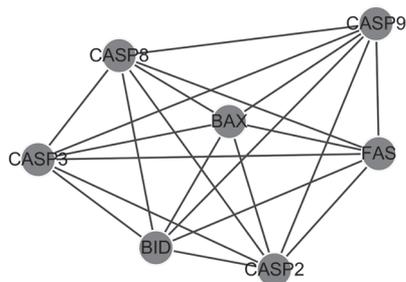


图1 华蟾素相关蛋白靶点互作网络图

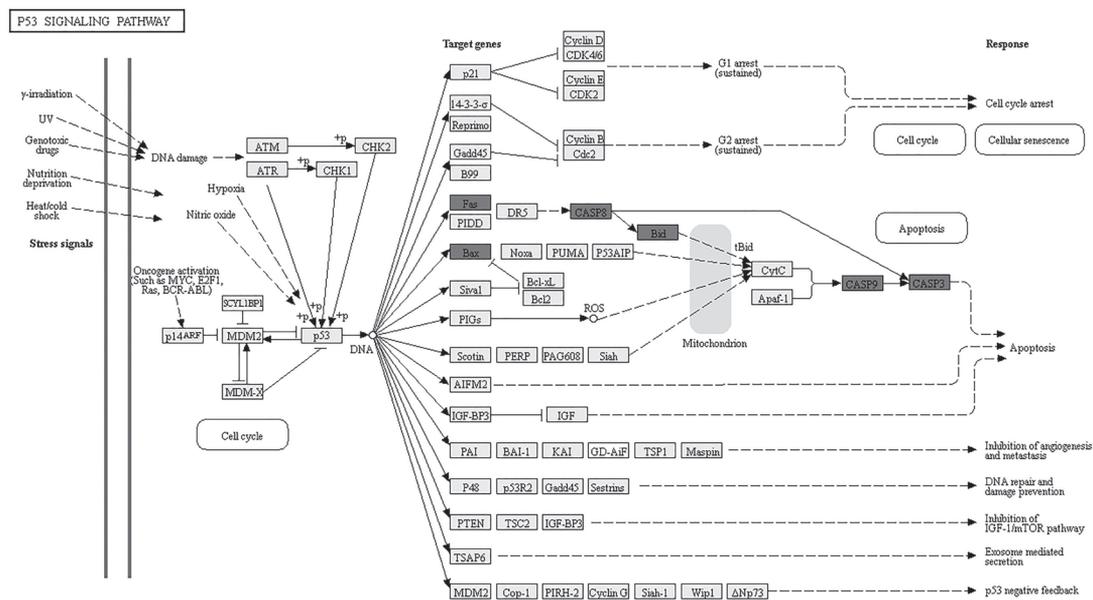
2.3 华蟾素抗肿瘤相关通路图制作与分析 将上述 7 个相关蛋白靶点导入 KOBAS3.0 在线平台软件, 即可得出华蟾素相关 KEGG 通路信息, 进一步筛选出具有抗肿瘤作用的生物信号通路, 见表 2。结果显示华蟾素潜在抗肿瘤相关通路共计 15 条, 主要涉及 p53 信号通路、癌症通路、结直肠癌信号通路、非小细胞肺癌信号通路、前列腺癌信号通路、血管内皮生长因子信号通路等。其中, 有 6 个蛋白靶点作用于 p53 信号通路 (p53 signaling pathway)、6 个蛋白靶点作用于癌症通路 (Pathways in cancer), 另外, 有 3 个蛋白靶点作用于结直肠癌信号通路 (Colorectal cancer signaling pathway), 见图 2。

表2 华蟾素抗肿瘤相关通路信息

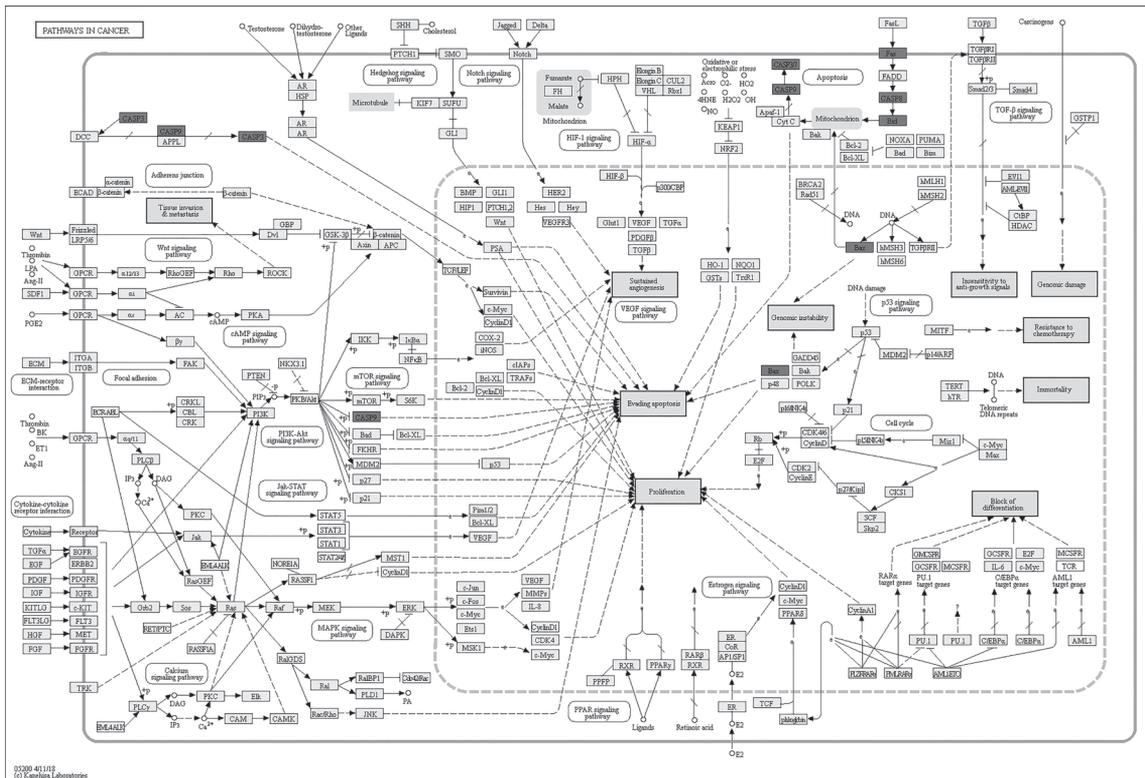
抗肿瘤相关通路名称	Gene ID
p53 signaling pathway	CASP3  CASP9  CASP8  BID  BAX  FAS
Pathways in cancer	CASP3  CASP9  CASP8  BID  BAX  FAS
Colorectal cancer	CASP3  CASP9 BAX
TNF signaling pathway	FAS  CASP3  CASP8
Proteoglycans in cancer	FAS  CASP3
MAPK signaling pathway	FAS  CASP3
Endometrial cancer	CASP9
Non-small cell lung cancer	CASP9
VEGF signaling pathway	CASP9
Pancreatic cancer	CASP9
EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	BAX
Small cell lung cancer	CASP9
Prostate cancer	CASP9
MicroRNAs in cancer	CASP3
PI3K-Akt signaling pathway	CASP9

利用 Omicshare 分析平台制作高级气泡图, 图中气泡从绿色到红色表示 P 由大到小, 气泡面积大小反应基因数量的多少。由富集分析结果可知, 共有 15 条与肿瘤相关的 KEGG 通路, 其中, 富集程度最高的前三条通路分别是 p53 信号通路 (p53 signaling pathway)、结直肠癌信号通路 (Colorectal cancer signaling pathway)、肿瘤坏死因子信号通路 (TNF signaling pathway)。见图 3。

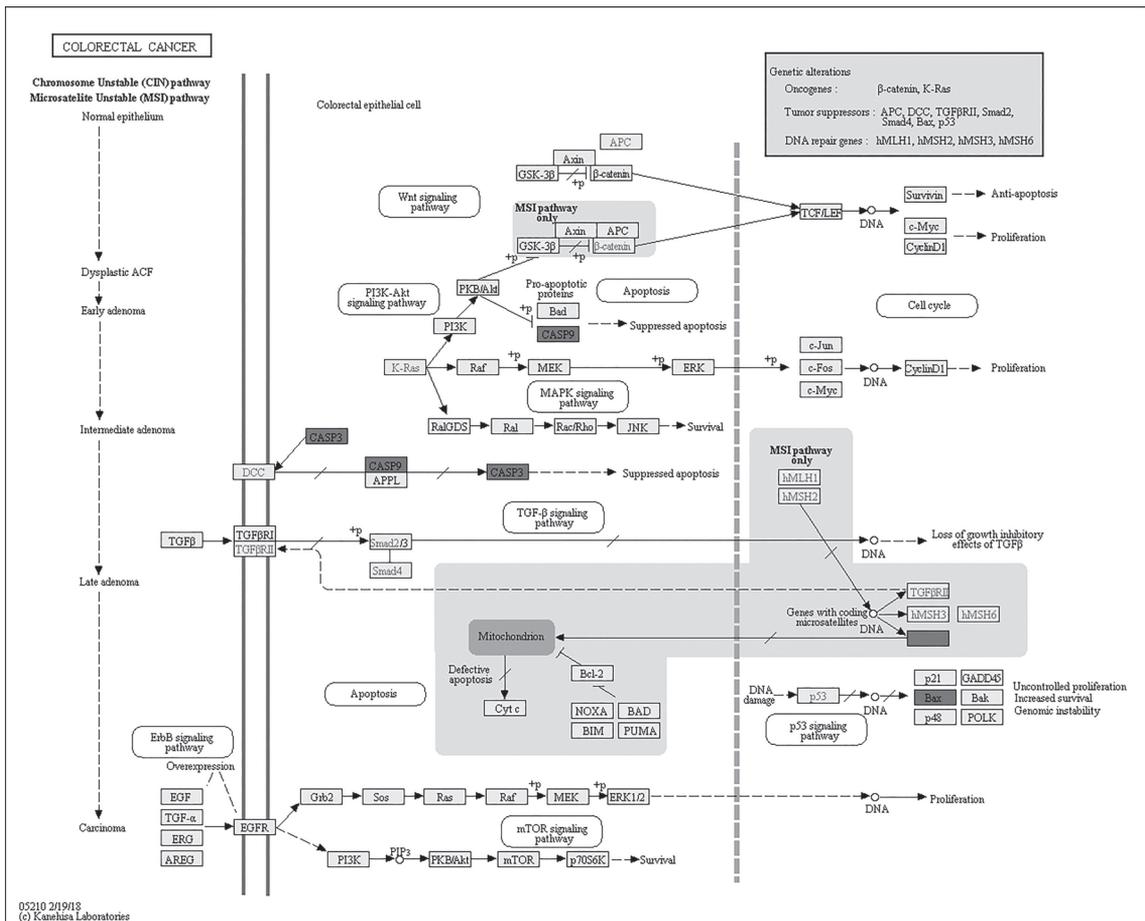
2.4 华蟾素的“成分-靶点-通路”图构建与分析 将上述步骤中收集到的华蟾素药物活性成分、蛋白靶点以及相关肿瘤信号通路信息, 共同列入 Excel 表格, 并设定对应关系及属性, 分别导入 cytoscape3.7.0 软件制作“成分-靶点-通路”图, 根据网络拓扑学性质, 选取度值 (Degree)



A (p53 signaling pathway)



B ( Pathways in cancer )



C ( Colorectal cancer )

A: p53信号通路图; B: 癌症通路; C: 结直肠癌信号通路图

图2 各通路图



# 基于“课程-竞赛-临床”中医经典三位一体教学模式在《金匱要略》教学中的应用

★ 胡子毅<sup>1</sup> 叶菁<sup>2</sup> 赖俊宇<sup>1</sup> 魏明全<sup>1</sup> (1. 江西中医药大学附属医院 南昌 330006; 2. 江西中医药大学 南昌 330004)

[摘要] 本研究主要针对当前高等中医院校教育中《金匱要略》教学现状,提出基于“课程-竞赛-临床”中医经典三位一体教学模式的改革与尝试,构建“课程-竞赛-临床”的教学体系,尤其注重真实案例与中医经典的有机结合,以促进学生对《金匱要略》理论知识的学习和实践技能的培养,提高教学质量,提升临床辨证能力。

[关键词] 金匱要略;课程-竞赛-临床;教学模式;教学改革

中图分类号: G642.4 文献标识码: A

## The Application of TCM Classic Trinity Teaching Mode in the Teaching of *Jin Gui Yao Lue* Based on the "Course-Competition-Clinical"

HU Zi-yi<sup>1</sup>, YE Jing<sup>2</sup>, LAI Jun-yu<sup>1</sup>, WEI Ming-quan<sup>1</sup>

1. The Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang, 330006;

2. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004.

[Abstract] This research is mainly aimed at the current teaching status of the *Jin Gui Yao Lue* in the school education of higher Chinese hospitals, and proposes reforms and attempts based on the "curriculum-competition-clinical" TCM classic trinity teaching model, and constructs a "curriculum-competition-clinical" teaching system, with particular emphasis on The organic combination of real cases and classics of traditional Chinese medicine can promote students' learning of the *Jin Gui Yao Lue* and the cultivation of practical skills, improve teaching quality, and enhance clinical diagnosis and treatment capabilities.

[Key words] *Jin Gui Yao Lue*; Course-Contest-Clinical; Teaching mode; Teaching Reform

(上接第 82 页)

- 对胰腺癌肝转移的影响[J]. 深圳中西医结合杂志, 2019, 29(6):42-43, 199.
- [6] 汤伟. 华蟾素注射液腹腔灌注治疗恶性腹水及其 VEGF 表达的临床研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [7] 唐策, 文检, 杨娟, 等. 藏药翼首草抗类风湿性关节炎活性成分靶点的网络药理学研究[J]. 中国药房, 2017, 28(19):2 666-2 670.
- [8] 魏志成, 童东, 杨娟, 等. 基于网络药理学的沙棘总黄酮治疗心肌缺血的作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7):1 238-1 244.
- [9] 吴敏信, 曹海燕. 吉非替尼联合华蟾素治疗晚期非小细胞肺癌的临床观察[J]. 名医, 2018(12):22.
- [10] 张应龙, 刘维, 江洪. 紫杉醇对鼻咽癌细胞株 CNE2 的增殖抑制作用及对 PI3K/AKT/p53 信号通路的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(14):1 652-1 654.
- [11] 冯飞. 观察华蟾素注射液外治法多途径治疗恶性肿瘤的临床疗效[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(59):162.
- [12] 罗备, 许月明. 华蟾素注射液治疗晚期恶性肿瘤临床疗效观察探讨[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(55):331, 333.
- [13] 赵振兴, 赵振山, 李海洋, 等. 华蟾素通过 miR-106a-5p/STAT3 信号通路调控肺癌细胞增殖和凋亡的机制研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(11):1 145-1 149.
- [14] LEIL TA, ERMAKOV S. Editorial:the emerging discipline of quantitative systems pharmacology[J]. Frontiers in Pharmacology, 2015, 6:129.
- [15] ALLERHEILIGEN SR. Next-generation model-based drug discovery and development:quantitative and systems pharmacology[J]. Clin Pharmacol Ther, 2010, 88(1):135-137.

(收稿日期: 2019-10-23) 编辑: 曾文雪

基金项目: 江西省中医药中青年骨干人才培养计划项目(赣中医药科教学[2020]2号); 江西省学位与研究生教育教学改革研究项目(JXYJG-2018-111); 江西中医药大学教学改革项目(2012-134)。

第一作者: 胡子毅, 博士, 硕士生导师。E-mail: huziyi0829@163.com。

通信作者: 叶菁, 博士, 硕士生导师。E-mail: yejing1016@163.com。