

健脾养胃方防治胃癌的网络药理学机制研究

钟婵¹, 张涛², 黄李冰雪¹, 徐文华¹, 陈远能²

(1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530000; 2. 广西中医药大学附属瑞康医院消化内科, 广西 南宁 530000)

摘要: **目的** 基于网络药理学技术研究健脾养胃方防治胃癌的作用机制。 **方法** 从相关数据库中收集并筛选有效化学成分和有效靶点。采用 Cytoscape 软件构建有效化学成分 - 靶点网络, 结合 CytoNCA 插件完成拓扑分析。通过 String 10.0 软件建立蛋白相互作用(PPI)网络, 结合 Centiscape 2.2 插件获得核心蛋白。经 DAVID 平台和 ClueGO 插件完成 GO 分析和 KEGG 分析。 **结果** 筛选出 145 个有效化学成分, 有效靶点中药物靶点占 151 个、胃癌靶点占 911 个、共同靶点占 88 个。有 88 个蛋白质节点参与 PPI 网络, 其中核心蛋白涉及 15 个。关键靶点不仅参与调控胃癌的细胞转录、MAPK 激活、缺氧应激、细胞凋亡、周期和衰老等过程, 还介导 NOD - Like 受体信号通路、PI3K - Akt 信号通路、HIF - 1 信号通路、VEGF 信号通路等。 **结论** 通过挖掘中药复方作用于胃癌的潜在靶点和有关通路, 推测健脾养胃方可能具有防治胃癌的效用, 为中医现代化发展奠定坚实的基础。

关键词: 健脾养胃方; 网络药理学; 靶点; 胃癌; 作用机制

中图分类号: R273.52

文献标志码: A

文章编号: 1673-7717(2020)05-0136-09

Study on Network Pharmacological Mechanism of *Jianpi Yangwei* Recipe in Prevention and Treatment of Gastric Cancer

ZHONG Chan¹, ZHANG Tao², HUANGLI Bingxue¹, XU Wenhua¹, CHEN Yuanneng²

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, Guangxi, China;

2. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To study the mechanism of *Jianpi Yangwei* Recipe in the prevention and treatment of gastric cancer based on network pharmacology. **Methods** The effective chemical constituents and effective targets were collected and screened from the relevant databases. Cytoscape software was used to construct the effective chemical composition - target network, and CytoNCA plug-in was used to complete the topology analysis. The PPI network of protein interaction was established by String10.0 software, and the core protein was obtained by combining with Centiscape 2.2 plug-in. GO analysis and KEGG analysis were completed by DAVID platform and ClueGO plug-in. **Results** A total of 145 effective chemical constituents were screened out, of which 151 were drug targets, 911 were gastric cancer targets and 88 were common targets. There were 88 protein nodes involved in the PPI network, of which 15 core proteins were involved. The key targets were not only involved in the regulation of cell transcription, MAPK activation, hypoxia stress, apoptosis, cycle and aging of gastric cancer, but also mediated NOD-like receptor signaling pathway, PI3K - Akt signaling pathway, HIF - 1 signaling pathway, VEGF signaling pathway and so on. **Conclusion** By excavating the potential targets and related pathways of traditional Chinese medicine compound prescription on gastric cancer, it is speculated that *Jianpi Yangwei* Recipe may have the effect of preventing and treating gastric cancer, which lays a solid foundation for the development of modernization of traditional Chinese medicine.

Keywords: *Jianpi Yangwei* Recipe; network pharmacology; target; gastric cancer; mechanism of action

健脾养胃方由黄芪、党参、白术、当归、白芍、半夏、陈

基金项目: 国家自然科学基金(81360531); 广西一流学科建设重点项目(2018XK081)

作者简介: 钟婵(1993-), 女, 江西赣州人, 硕士研究生, 研究方向: 消化系统疾病诊治。

通讯作者: 陈远能(1964-), 男, 广西南宁人, 主任医师, 硕士研究生导师, 博士, 研究方向: 消化系统疾病诊治。E-mail: cyn60668@aliyun.com。

皮、三棱、莪术、水红花子、白花蛇舌草、甘草 12 味药组成。方中黄芪为补脾益气之药, 党参、白术、甘草取四君子汤之意, 益气健脾; 半夏、陈皮行气化痰, 醒脾消食; 白芍酸苦而凉, 合甘草“酸甘化阴”, 缓急止痛; 当归、三棱、莪术、水红花子活血行气消积; 白花蛇舌草清热解毒。此方扶正祛邪, 标本兼顾, 共奏健脾和胃、行气化痰、消癥散结之功。《景岳全书》云“凡脾胃不足及虚弱失调之人, 多有积聚之病。”祖国医学认为脾胃亏虚, 气血生化乏源, 后天之本失养, 正气亏虚, 易感邪毒; 脾虚失运, 胃气衰败, 脾胃升降失

常,痰湿阻滞中焦,日久络阻血瘀,癌毒滋生,加之正虚不能祛邪,终成胃癌;说明脾虚贯穿胃癌发病始终,须以健脾养胃为主,活血化瘀、清热解毒为辅的治则。诸多临床实践证明健脾养胃方具有防治胃癌的效用^[1-7]。

网络药理学是基于系统生物学和生物信息学的理论指导结合网络分析平台的一门新兴技术^[8-9]。本研究方法从系统层面成功揭示了成分-靶点-疾病的作用机制,侧面展现了中药复方“多成分、多靶点、系统调节”的独特优势。本文结合文献和网络药理学方法挖掘健脾养胃方的有效成分和作用靶点,以全面阐释健脾养胃方防治胃癌的可能机制。

1 材料与方法

1.1 纳入和筛选健脾养胃方有效化学成分及对应的靶点

应用 TCMS 平台(<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/temsp.php>)共纳入健脾养胃方 1153 个化学成分,包括黄芪 87 个、党参 134 个、白术 55 个、当归 125 个、白芍 85 个、半夏 116 个、陈皮 63 个、三棱 30 个、莪术 81 个、水红花子 60 个、白花蛇舌草 37 个、甘草 280 个。结合筛选阈值口服利用度(Oral bioavailability, OB) ≥ 30% 和类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18,共筛选出 176 个有效化学成分,去重后共 145 个。健脾养胃方 12 味全方对应的所有靶点共 1991 个,去重后共 151 个。说明该方的潜在活性成分和靶点有防治胃癌的可能。

1.2 建立和拓扑分析有效化学成分-靶点网络 将 145 个有效化学成分和 151 个作用靶点导入 Cytoscape 3.4.0 软件(<http://www.cytoscape.org/>)建立有效化学成分-靶点网络。通过 CytoNCA 软件对中药方的有效化学成分和靶点进行拓扑分析,根据度中心性(degree centrality, DC)、中介中心性(betweenness centrality, BC)、接近中心性(close-ness centrality, CC)和特征向量中心性(eigenvector centrality, EC)的参数值来预测该网络的重要节点,参数值越大,越趋向于该网络的核心节点。

1.3 收集健脾养胃方和胃癌的共同靶点 从 CTD、GeneCards、OMIM 三库合并的数据库中获得 911 个胃癌靶点,结合健脾养胃方的 151 个作用靶点经 Venny 2.1.0(<http://bioinfo.p.cnbc.csic.es/tools/venny/index.html>)软件共收集 88 个共同靶点,说明中药有效成分和疾病的靶向作用关系。

1.4 构建健脾养胃方蛋白相互作用(PPI)网络 将收集的 88 个共同靶点输入 String 10.0 软件(<http://string-db.org>)筛选置信度高于 0.9 的蛋白,将导出的文本数据导入 Cytoscape 中进行节点大小和颜色的调整,再利用 Centiscape2.2 软件计算 Degree 值,根据 Degree ≥ 10 作为筛选节点条件并绘制条形图,以更佳突出该网络中的关键节点。

1.5 基因生物功能与通路分析 综合 David v 6.7 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)和 Cytoscape 的插件 ClueGO 对潜在靶点进行 GO 分析和 KEGG 分析,根据 P 值 < 0.01 选取有意义的生物功能和信号通路。将信号通路文本数据导入 OmicsShare 云平台(<http://www.omicsshare.com/>)获得前 16 条信号通路。说明该网络中的基因在胃癌中具有重要的生物学功能,并诱导激活与胃癌密切相关的通

路。

2 结果

2.1 有效化学成分筛选 经 OB 和 DL 的阈值和去重处理,本研究共筛选出 145 个有效化学成分。见表 1。

表 1 健脾养胃方中含有的 145 个有效化学成分基本信息

分子 ID	名称	口服利用度(%)	类药性	来源
M371	3,9-di-O-methylisolin	53.74	0.48	黄芪
M378	7-O-甲基二氢苯并吡喃酚	74.69	0.30	黄芪
M379	9,10-甲氧基紫檀素-3-O-β-D-葡萄糖苷 (6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-di-	36.74	0.92	黄芪
M380	hydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42	黄芪
M387	联苯双酯	31.10	0.67	黄芪
M433	FA	68.96	0.71	黄芪
M439	二氢苯并吡喃酚-7,2'-di-O-葡萄糖苷	49.28	0.62	黄芪
M442	1,7-二羟基-3,9-甲氧基紫檀烯	39.05	0.48	黄芪
M1006	poriferasta-7,22E-dien-3β-ol	42.98	0.76	党参
M2140	川芎嗪	65.95	0.27	党参
M2879	Diop	43.59	0.39	党参
M3036	锌 03978781	43.83	0.76	党参
M4355	菠菜甾醇	42.98	0.76	党参
M6	木犀草素	36.16	0.25	党参
M6774	豆甾-7-烯醇	37.42	0.75	党参
M7059	3-beta-Hydroxymethylenetanshinone	32.16	0.41	党参
M7514	methyl icosan-11,14-dienoate	39.67	0.23	党参
M8393	7-(beta-Xylosyl)cephalomannine-qt	38.33	0.29	党参
M8397	Daturin	50.37	0.77	党参
M8400	大豆黄素 (8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[[E,2R,5S]-5-ethyl-6-methylhept-3-en-2-yl]-10,13-dimethyl-1,2,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one	50.48	0.24	党参
M8407	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[[2R,5S]-5-propan-2-yl]octan-2-yl]-15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	45.40	0.76	党参
M8411	11-Hydroxyrankinidine (3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[[2R,5S]-5-propan-2-yl]octan-2-yl]-15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	40.00	0.66	党参
M33	14-acetyl-12-seneciyl-2E,8Z,10E-atractylentriol	36.23	0.78	白术
M22	14-acetyl-12-seneciyl-2E,8Z,10E-atractylentriol	63.37	0.30	白术
M49	3β-乙酰氧基苍术酮	54.07	0.22	白术
M72	8β-乙酰氧基白术内酯 III	35.95	0.21	白术
M358	β-谷甾醇	36.91	0.75	当归
M449	豆甾醇	43.83	0.76	当归
M1918	paeoniflorgenone (3S,5R,8R,9R,10S,14S)-3,17-dihydroxy-4,4,8,10,14-pentamethyl-2,3,5,6,7,9-hexahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-15,16-dione	87.59	0.37	白芍
M1919	(3S,5R,8R,9R,10S,14S)-3,17-dihydroxy-4,4,8,10,14-pentamethyl-2,3,5,6,7,9-hexahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-15,16-dione	43.56	0.53	白芍
M1924	芍药苷	53.87	0.79	白芍
M492	(+)-儿茶素	54.83	0.24	白芍
M1755	24-Ethylcholest-4-en-3-one	36.08	0.76	半夏

M2670	Cavidine	35.64	0.81	半夏	M4828	Glepidotin A	44.72	0.35	甘草
M2776	黄芩苷	40.12	0.75	半夏	M4829	Glepidotin B	64.46	0.34	甘草
M5030	巨头鲸鱼酸	30.70	0.20	半夏	M4833	Phaseolimosflavan	32.01	0.45	甘草
M519	松柏苷	31.11	0.32	半夏	M4835	刺果甘草查尔酮	61.60	0.19	甘草
M6936	10,13-eicosadienoic (3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxy- benzyl)piperazine-2,5-quinone	39.99	0.20	半夏	M4838	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2- dimethyl-5-chromenol	58.44	0.38	甘草
M6957		46.89	0.27	半夏	M4841	甘草查尔酮 B	76.76	0.19	甘草
M3578	Cycloartenol	38.69	0.78	半夏	M4848	甘草查尔酮 G	49.25	0.32	甘草
M6967	beta-D-Ribofuranoside, xanthine-9	44.72	0.21	半夏	M4849	3-(2,4-二羟基苯基)-8-(1,1-二甲酯 -2-烯基)-7-羟基-5-甲氧基-香豆素	59.62	0.43	甘草
M2714	baicalein	33.52	0.21	半夏	M4855	甘草利酮	63.58	0.47	甘草
M5100	5,7-二羟基-2-(3-羟基-4-甲氧基苯 基)苯并二氢吡喃-4-one	47.74	0.27	陈皮	M4856	Gancaonin A	51.08	0.40	甘草
M5815	米桔素	86.90	0.51	陈皮	M4857	Gancaonin B	48.79	0.45	甘草
M5828	nobiletin	61.67	0.52	陈皮	M4863	3-(3,4-二羟基苯基)-5,7-二羟基-8- (3-甲基丁烯-2-烯基)色酮	66.37	0.41	甘草
M1297	trans-gondoic acid	30.70	0.20	三棱	M4864	5,7-二羟基-3-(4-甲氧基苯基)-8-(3- -甲基丁烯-2-烯基)色酮	30.49	0.41	甘草
M296	常春藤皂苷元	36.91	0.75	莪术	M4866	2-(3,4-二羟基苯基)-5,7-二羟基-6- (3-甲基丁烯-2-烯基)色酮	44.15	0.41	甘草
M1040	(2R)-5,7-二羟基-2-(4-羟基苯基)苯 并二氢吡喃-4-one	42.36	0.21	水红花子	M4879	Glycyrin	52.61	0.47	甘草
M12777	山柰酚-3-O-α-L-鼠李糖苷	41.88	0.69	水红花子	M4882	甘草香豆酮	33.21	0.36	甘草
M12778	山柰酚-3-O-α-L-鼠李糖苷 _{qt}	30.24	0.24	水红花子	M4883	Licoisoflavone	41.61	0.42	甘草
M1736	(-)-紫杉叶素	60.51	0.27	水红花子	M4884	Licoisoflavone B	38.93	0.55	甘草
M3044	Chryseriol	35.85	0.27	水红花子	M4885	licoisoflavone	52.47	0.54	甘草
M332	n-酰胺	85.63	0.20	水红花子	M4891	shinpterocarpin	80.30	0.73	甘草
M4576	紫杉叶素	57.84	0.27	水红花子	M4898	(E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methyl- but-2-enyl)phenyl]-1-(2,4-dihydroxy- phenyl)prop-2-en-1-one	46.27	0.31	甘草
M5190	圣草酚	71.79	0.24	水红花子	M4903	甘草苷	65.69	0.74	甘草
M7923	2-(4-hydroxyphenyl)ethyl (E)-3-(4- hydroxyphenyl)prop-2-enoate	93.36	0.21	水红花子	M4904	甘草吡喃香豆酮	80.36	0.65	甘草
M1659	Poriferasterol	43.83	0.76	白花蛇舌草	M4907	Glyzaglabrin	61.07	0.35	甘草
M1670	2-甲氧基-3-甲基-9,10-蒽醌	37.83	0.21	白花蛇舌草	M4908	光甘草定	53.25	0.47	甘草
M1484	Inermine	75.18	0.54	甘草	M4910	光甘草宁	52.90	0.31	甘草
M1792	DFV	32.76	0.18	甘草	M4911	光甘草素	46.27	0.44	甘草
M211	Mairin	55.38	0.78	甘草	M4912	光甘草酮	52.51	0.50	甘草
M2311	Glycyrol	90.78	0.67	甘草	M4913	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano [3,2-c]chromenone	48.14	0.43	甘草
M239	Jaranol	50.83	0.29	甘草	M4914	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzo- furano[3,2-c]chromenone	62.90	0.53	甘草
M2565	Medicarpin	49.22	0.34	甘草	M4915	Eurycarpin A	43.28	0.37	甘草
M354	异鼠李素	49.60	0.31	甘草	M4924	(-)-Mediocarpin	40.99	0.95	甘草
M359	sitosterol	36.91	0.75	甘草	M4935	Sigmoidin-B	34.88	0.41	甘草
M3656	Lupiwightone	51.64	0.37	甘草	M4941	(2R)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)苯并二 氢吡喃-4-one	71.12	0.18	甘草
M3896	7-甲氧基-2-甲基异黄酮	42.56	0.20	甘草	M4945	(2S)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-8- (3-甲基丁烯-2-烯基)苯并二氢吡喃-4- -one	36.57	0.32	甘草
M392	芒柄花素	69.67	0.21	甘草	M4948	异甘草酚	44.70	0.84	甘草
M417	Calycosin	47.75	0.24	甘草	M4949	异甘草黄酮醇	45.17	0.42	甘草
M422	山柰酚	41.88	0.24	甘草	M4957	HMO	38.37	0.21	甘草
M4328	柚	59.29	0.21	甘草	M4959	1-Methoxyphaseollidin	69.98	0.64	甘草
M4806	euchrenone	30.29	0.57	甘草	M4961	槲皮素 der.	46.45	0.33	甘草
M4808	glyasperin B	65.22	0.44	甘草	M4966	3'-Hydroxy-4'-O-Methylglabridin	43.71	0.57	甘草
M4810	glyasperin F	75.84	0.54	甘草	M497	甘草查尔酮 A	40.79	0.29	甘草
M4811	Glyasperin C	45.56	0.40	甘草	M4974	3'-Methoxyglabridin	46.16	0.57	甘草
M4814	Isotrifoliol	31.94	0.42	甘草					
M4815	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2- -dimethylchromen-6-yl)prop-2-en-1- -one	39.62	0.35	甘草					
M4820	kanzonols W	50.48	0.52	甘草					
M4824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2- hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3- dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	60.25	0.63	甘草					
M4827	Semilicoisoflavone B	48.78	0.55	甘草					

编号	名称	度	特征向量中心性	中介中心性	接近中心性
M4978	2 - [(3R) - 8 β - dimethyl - 3,4 - dihydro - 2H - pyrano[6,5 - f] chromen - 3 - yl] - 5 - methoxyphenol	36.21	0.52	甘草	
M4980	香豆素 A	39.71	0.33	甘草	
M4985	icos - 5 - enoic acid	30.70	0.20	甘草	
M4988	Kanzonol F	32.47	0.89	甘草	
M4989	6 - prenylated eriodictyol	39.22	0.41	甘草	
M4990	7,2',4' - 三羟基 - 5 - 甲氧基 - 3 - 芳基香豆素	83.71	0.27	甘草	
M4991	7 - Acetoxy - 2 - methylisoflavone	38.92	0.26	甘草	
M4993	8 - prenylated eriodictyol	53.79	0.40	甘草	
M4996	反二十碳烯酸	30.70	0.20	甘草	
M500	Vestitol	74.66	0.21	甘草	
M5000	Gancaonin G	60.44	0.39	甘草	
M5001	Gancaonin H	50.10	0.78	甘草	
M5003	Licoagrocarpin	58.81	0.58	甘草	
M5007	Glyasperins M	72.67	0.59	甘草	
M5008	Glycyrrhiza flavonol A	41.28	0.60	甘草	
M5012	Licoagroisoflavone	57.28	0.49	甘草	
M5016	Odoratin	49.95	0.30	甘草	
M5017	Phaseol	78.77	0.58	甘草	
M5018	Xambioona	54.85	0.87	甘草	
M5020	dehydroglyasperins C	53.82	0.37	甘草	
M98	槲皮素	46.43	0.28	甘草	

表 2 有效化学成分 - 靶点网络的拓扑分析

名称	类别	度	特征向量中心性	中介中心性	接近中心性
PTGS2	靶点	99	0.201 573	11 527.522 000	0.249 247
ESR1	靶点	87	0.192 514	5 317.342 300	0.228 276
F7	靶点	77	0.134 147	4 624.287 000	0.226 712
HSP90AA1	靶点	74	0.153 238	8 125.565 000	0.242 669
AR	靶点	72	0.178 267	3 738.362 300	0.234 752
M98	有效化学成分	71	0.070 089	23 937.613 000	0.238 473
NOS2	靶点	70	0.174 757	2 138.576 400	0.222 446
CALM2	靶点	68	0.166 857	1 131.380 400	0.207 915
PTGS1	靶点	67	0.126 739	12 117.859 000	0.246 647
PPARG	靶点	66	0.169 408	2 738.720 700	0.231 469
NCOA2	靶点	65	0.123 322	9 072.901 000	0.234 088
PRSS1	靶点	65	0.162 074	3 309.268 600	0.233 427
CDK2	靶点	61	0.154 147	1 530.725 500	0.209 759
GSK3B	靶点	58	0.151 646	912.257 570	0.209 759
CCNA2	靶点	56	0.146 078	913.190 060	0.208 438
ESR2	靶点	54	0.141 442	704.130 800	0.206 359
SCN5A	靶点	53	0.123 530	3 385.755 000	0.228 276
CHEK1	靶点	50	0.130 426	768.334 300	0.208 438
MAPK14	靶点	48	0.128 617	540.201 230	0.205 081
DPP4	靶点	41	0.101 026	1 742.297 000	0.223 951
M378	有效化学成分	41	0.078 717	6 019.918 000	0.225 784
ADRB2	靶点	40	0.089 263	2 280.768 300	0.224 255
M422	有效化学成分	39	0.056 135	8 609.084 000	0.228 591
RXRα	靶点	38	0.083 865	2 007.616 600	0.222 746
SERPIND1	靶点	38	0.090 762	1 333.717 200	0.216 340
M3896	有效化学成分	37	0.112 316	1 930.428 800	0.226 402
TOP2B	靶点	36	0.079 781	2 475.253 200	0.217 763
M392	有效化学成分	30	0.097 510	2 147.825 400	0.221 850
M2565	有效化学成分	30	0.076 285	1 783.371 700	0.221 553
M354	有效化学成分	28	0.097 663	2 210.378 400	0.223 649
M1670	有效化学成分	28	0.043 426	2 991.986 000	0.221 257
M2670	有效化学成分	28	0.040 781	3 347.379 000	0.221 850
M6	有效化学成分	28	0.030 581	4 877.916 500	0.220 667
M5003	有效化学成分	27	0.102 734	650.208 900	0.223 347
M500	有效化学成分	27	0.097 780	650.158 100	0.220 961
M4978	有效化学成分	27	0.101 326	563.215 450	0.223 347
M449	有效化学成分	27	0.030 142	4 907.856 000	0.220 961
ADRA1B	靶点	27	0.063 630	870.551 200	0.211 637
ACHE	靶点	27	0.067 723	806.707 400	0.214 378
M4974	有效化学成分	26	0.104 785	406.745 450	0.223 347
M497	有效化学成分	26	0.092 780	1 399.060 800	0.223 046
M4959	有效化学成分	26	0.103 843	472.673 980	0.223 649
M4891	有效化学成分	26	0.088 194	717.487 550	0.220 667
M4966	有效化学成分	25	0.101 218	409.733 700	0.223 046
M4835	有效化学成分	25	0.087 731	773.511 700	0.220 373
M5828	有效化学成分	25	0.068 864	2 361.214 400	0.222 148
M358	有效化学成分	25	0.031 171	4 235.048 000	0.220 667
NCOA1	靶点	25	0.056 779	612.852 700	0.205 335
CHRM1	靶点	25	0.053 420	988.750 730	0.212 452
M5007	有效化学成分	23	0.090 298	652.203 860	0.222 446
M4991	有效化学成分	23	0.093 440	381.442 000	0.222 148
M4957	有效化学成分	23	0.089 434	378.588 230	0.219 788
M4811	有效化学成分	23	0.100 108	272.897 220	0.221 850
M4908	有效化学成分	22	0.089 616	301.161 870	0.219 205

2.2 健脾养胃方有效化学成分 - 靶点调控网络及拓扑分析 该网络由 296 个节点和 1991 条边组成,其中节点来源 145 个有效化学成分和 151 个靶点,紫色节点表示有效化学成分,红色节点表示药物靶点,每条边代表化学成分与靶点之间的靶向作用关系。见插图 XX 图 1。通过 CytoNCA 软件计算出该网络中 DC 中位数为 5,BC 中位数为 61.065 307,CC 中位数为 0.199 277,EC 中位数为 0.025 337。根据 DC 值大于 2 倍中位数值(DC > 10)的节点视为关键节点,并结合 BC > 61.065 307,CC > 0.199 277,EC > 0.025 337 作为评价该网络核心节点的参数值。见表 2。拓扑分析表中,每个有效化学成分的平均度中心性值为 21,高于该均值的有效化学成分有 30 个;每个靶点的平均度中心性值为 51,高于该均值的靶点有 16 个;一个节点的度中心性值越大说明该节点在网络中就越重要。在有效化学成分中,甘草中的槲皮素(M98)的节点度最高,作用于 71 个药物靶点,降序依次为黄芪中的 7-O-甲基二氢苯并吡喃酚(M378)对应靶点 41 个、甘草中的山柰酚(M422)对应靶点 39 个、甘草中的 7-甲氧基-2-甲基异黄酮(M3896)对应靶点 37 个、甘草中的芒柄花素(M392)对应靶点 30 个。在所有靶点中,节点度最高的为前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin G/H synthase 2,PTGS2),靶向 99 个有效化学成分,降序依次为雌激素受体(Estrogen receptor,ESR1)靶向 87 个、凝血因子 VII (Coagulation factor VII,F7)靶向 77 个、热休克蛋白 HSP 90 - α(Heat shock protein HSP 90 - alpha,HSP90AA1)靶向 74 个、雄激素受体(Androgen receptor,AR)靶向 72 个。由此展现了健脾养胃方多成分、多靶点的特性。

2.3 维恩分析健脾养胃方与胃癌的共同靶点 胃癌的 911 个靶点由 CTD、Genecards、OMIM 三库合并获得,并与健

M4849	有效化学成分	22	0.089 669	281.316 100	0.220 961
M4828	有效化学成分	22	0.093 325	262.195 560	0.220 373
M371	有效化学成分	22	0.052 711	1 095.898 100	0.221 850
M4857	有效化学成分	21	0.086 893	259.376 460	0.220 961
M4833	有效化学成分	21	0.089 441	171.103 970	0.216 057
M8400	有效化学成分	21	0.063 026	2 850.234 100	0.218 915
M380	有效化学成分	21	0.045 889	1 463.616 500	0.221 553
ADRA1D	靶点	21	0.036 975	612.184 100	0.204 321
M4912	有效化学成分	20	0.091 225	155.255 540	0.219 205
M4824	有效化学成分	20	0.084 336	160.619 340	0.214 378
M4820	有效化学成分	20	0.091 238	232.904 530	0.221 850
M4808	有效化学成分	20	0.084 905	227.770 460	0.220 373
M3656	有效化学成分	20	0.093 740	198.185 200	0.220 961
M5016	有效化学成分	19	0.090 708	180.355 160	0.220 667
M4885	有效化学成分	19	0.083 320	187.352 830	0.219 496
M4864	有效化学成分	19	0.088 291	184.034 290	0.220 373
M4856	有效化学成分	19	0.086 799	186.435 230	0.220 667
M4815	有效化学成分	19	0.084 106	277.591 030	0.220 961
M417	有效化学成分	19	0.089 603	181.599 640	0.220 667
M519	有效化学成分	19	0.044 215	1 895.338 300	0.218 915
M5000	有效化学成分	18	0.084 774	160.500 230	0.220 080
M4915	有效化学成分	18	0.087 182	100.595 406	0.216 907
M4911	有效化学成分	18	0.085 736	179.272 800	0.220 667
M4883	有效化学成分	18	0.081 619	191.805 070	0.220 080
M2714	有效化学成分	18	0.037 603	2 263.435 800	0.219 205
KCNH2	靶点	18	0.045 564	548.807 600	0.212 452
M5020	有效化学成分	17	0.082 962	134.867 800	0.219 496
M5012	有效化学成分	17	0.082 234	80.538 506	0.214 935
M4827	有效化学成分	17	0.075 250	124.299 460	0.217 192
M4810	有效化学成分	17	0.083 450	139.083 470	0.219 205
M5008	有效化学成分	16	0.071 194	105.333 360	0.215 495
M4961	有效化学成分	16	0.079 073	136.602 070	0.219 788
M4884	有效化学成分	16	0.075 593	92.118 720	0.213 548
M4879	有效化学成分	16	0.068 865	157.150 360	0.218 915
M4863	有效化学成分	16	0.079 347	114.995 510	0.218 915
M4841	有效化学成分	16	0.070 257	242.251 590	0.217 763
M3044	有效化学成分	16	0.055 972	1 205.646 500	0.217 477
CHRM3	靶点	16	0.028 171	425.420 380	0.202 570
M4907	有效化学成分	15	0.074 640	82.675 316	0.217 192
M4904	有效化学成分	15	0.063 252	106.300 420	0.212 999
M4866	有效化学成分	15	0.064 597	83.155 030	0.215 776
M4848	有效化学成分	15	0.072 870	121.064 476	0.218 626
M7059	有效化学成分	15	0.037 319	298.240 660	0.214 935
M4980	有效化学成分	14	0.064 988	126.322 560	0.219 496
M4949	有效化学成分	14	0.070 986	95.082 680	0.218 338
M4855	有效化学成分	14	0.061 037	132.628 270	0.218 338
M1484	有效化学成分	14	0.037 933	278.481 840	0.216 057
M49	有效化学成分	14	0.031 183	442.483 030	0.212 999
M4990	有效化学成分	13	0.064 692	67.119 064	0.216 623
M239	有效化学成分	13	0.062 553	100.982 735	0.218 915
M4941	有效化学成分	12	0.035 939	254.272 110	0.216 623
M4829	有效化学成分	12	0.044 648	109.879 270	0.217 192
M5001	有效化学成分	11	0.050 979	100.623 955	0.217 763
M4945	有效化学成分	11	0.050 621	65.792 430	0.216 340
M4898	有效化学成分	11	0.057 002	62.961 544	0.217 192

用关系。见图 2。

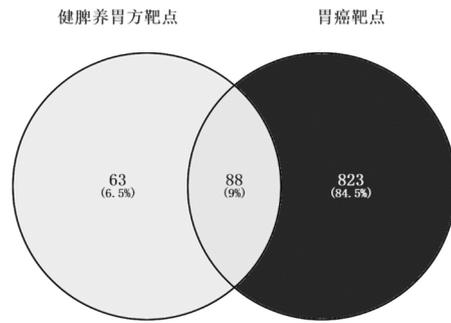


图 2 健脾养胃方与胃癌的共同靶点维恩图

2.4 健脾养胃方 PPI 网络的构建与分析 通过 String 数据库和 Cytoscape 软件构建健脾养胃方 PPI 网络。见插页 XX 图 3。该网络由 88 个蛋白质节点和 223 条边组成,节点的大小和颜色表示 Degree 值的大小,节点越大对应的 Degree 值越大,颜色由红变蓝对应的 Degree 值越大。边的粗细表示 Combine score 值的大小,边越粗 Combine score 值越大。运用 Centiscape 2.2 软件计算该网络节点的 Degree 值,导出 EXCEL 格式的数据文件,选取 Degree ≥ 10 的节点建立条形图。见图 4。该图的核心蛋白包括 JUN、TP53、MAPK1、MAPK3、HSP90AA1、MAPK14、TNF、MAPK8、NR3C1、RBI、ESR1、VEGFA、EGFR、IL6、IL2。这 15 个核心蛋白是整个网络的靶心,也是胃癌的潜在靶点,为胃癌的靶向治疗提供了有力依据。

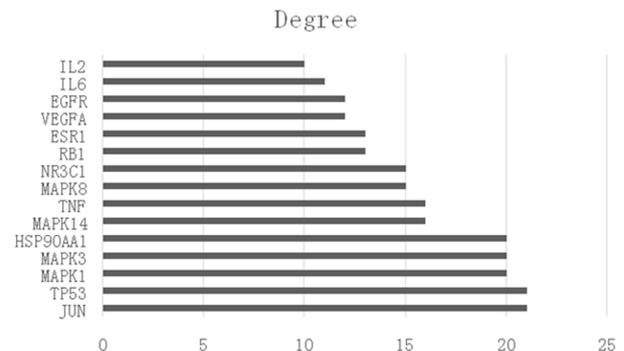


图 4 健脾养胃方的核心蛋白

2.5 基因生物功能与通路分析 从 DAVID 数据库中输入 88 个共同靶基因,导出生物过程 (Biological Process) 和 PATHWAY 富集分析数据,根据 Pvalue < 0.01 筛选相应的条目并构图,其中信号通路气泡图由 Omicshare 在线软件生成。见插页 XX 图 5,插页 XXI 图 6。运用 ClueGO 插件绘制饼图进行细胞组成和分子功能富集分析。见插页 XXI 图 7~图 8。其中生物过程主要与一氧化氮生物合成过程的正调控、毒性物质应答、序列特异性 DNA 结合转录因子活性的调控、MAPK 激活、细胞转录的调控及 DNA 模板、基因表达的正调控、细胞凋亡过程的负调控、衰老过程、缺氧应激、氧化还原过程有关。细胞组成主要参与纤维胶凝蛋白颗粒内腔、血小板 α 颗粒腔、细胞小凹、基膜、细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物、突触前膜组成成分等方面。分子功能主要涉及氨跨膜转运活性、支架蛋白结合、无序结构域特异结合、作用于 CH 或 CH2 基团的氧化还原酶活性、水解

健脾养胃方的 151 个靶点共同导入 Venny 2.1.0 软件,从而取得 88 个共同靶点,进一步确定了中药方与胃癌的靶向作

酶活性、蛋白酶结合、MAP 激酶活性、RNA 聚合酶 II 转录因子结合、磷酸酶结合、一氧化氮合酶调节活性、细胞周期蛋白激酶活性、类固醇激素受体活性、生长因子结合、氧化还原酶的活性、血红素结合等方面。气泡图中用节点的颜色代表 Pvalue 值,由红变绿对应的 Pvalue 值越大。用节点的大小代表基因个数,节点越大对应的基因数越多。而 Rich factor 则表示差异基因富集在通路上的程度,Rich factor 越大,表示富集的程度越大。由此可预测与胃癌相关的通路共 16 条,其中最相关的主要涉及 NOD - Like 受体信号通路、PI3K - Akt 信号通路、HIF - 1 信号通路、VEGF 信号通路。这说明通过健脾养胃方抑制上述信号通路可起到防治胃癌的效用。

3 讨论

中医认为胃癌的病机为脾胃虚弱,运化失职,气血无以生化,正气不足,外邪内侵而生百病。胃主受纳,腐熟水谷,脾主运化,输布精微,升清降浊,故脾胃为后天之本,气血生化之源。《脾胃论》云“百病皆由脾胃衰而生”“若脾胃之本弱,饮食白倍,既而元气也不能充,而诸病之所由生也”。因此健脾养胃法是中医药治疗胃癌的根本大法。

据研究证实健脾养胃方具有诱导细胞凋亡,抑制肿瘤增殖和侵袭,干扰细胞周期和信号通路等功能^[10]。综合文献及本文网络药理学分析结果,发现有效成分中的槲皮素^[11]、山柰酚^[12]、芍药苷^[13]、 β -谷甾醇^[14]、常春藤皂苷元^[15]、黄芩苷^[16]这 6 种化合物在胃癌的防治机制中起关键作用。蒋先仲等^[17]发现抗胃癌植物类中药中的甘草和白花蛇舌草可抑制肿瘤增殖、生长,黄芪可诱导细胞凋亡,白术可抑制肿瘤侵袭、转移。从 PPI 网络分析结果发现参与胃癌的核心蛋白涉及 JUN、TP53、HSP90AA1、NR3C1、MAPK1、MAPK3、MAPK14、RBI、ESR1、VEGFA、EGFR 等,且这些基因被认为用于胃癌的预后和检测^[18-19]。根据 KEGG 结果提示与胃癌最相关的信号通路共 16 条,其中主要为 NOD - Like 受体信号通路、PI3K - Akt 信号通路、HIF - 1 信号通路、VEGF 信号通路。研究表明 NOD 样受体家族中的 NLRP12 和 NLRX1 受幽门螺杆菌感染影响,均可负性调控非典型 NF - κ B 途径,其原因在于 NLRP12 与 NF - κ B 诱导激酶(NIK)结合,促进蛋白酶体的降解,导致 IL - 8、IL - 12、IL - 6、TNF - α 等一系列炎性细胞因子的失活,NLRP12 还通过靶向白细胞介素 - 1 受体相关激酶 1 (IRAK1) 调节 NF - κ B 信号通路,从而阻断 IRAK - 1 过度磷酸化^[20]。XIA X 等^[21]发现 NLRX1 以激活信号依赖的方式与 TRAF6 或 I - κ B 激酶(IKK)相互作用,在内毒素刺激下,NLRX1 被迅速泛素化,与 TRAF6 分离,与 IKK 复合物结合,从而抑制 IKK α 和 IKK β 磷酸化,抑制 NF - κ B 的活化。由此说明 NOD - Like 受体信号通路可抑制 NF - κ B 下游信号因子从而阻止胃黏膜发生恶变。研究证实,HIF - 1 α 高表达与胃癌患者预后不良有关,该基因被认为可能是胃癌的潜在预后生物标记物。ZHANG J 等发现 HIF - 1 α 表达下调可显著抑制胃癌的恶性表型^[22-23]。HIF - 1 α 是 VEGF 的主要上游调节因子,也是最有效的血管生成刺激因子之一^[24]。VEGF 的过度表达与肿瘤的进展和不良的临床结果密切相关^[25]。PI3K/AKT 信号通路通过影响 VEGF 的表达来调节血管生成^[26]。miR - 592 的过度表达

促进胃癌的增殖、迁移和侵袭,并通过抑制 SPRY2 的 PI3K/AKT 和 MAPK/ERK 信号通路诱导 EMT,提示其可能成为胃癌的治疗靶点^[27]。PI3K/Akt/mTOR 通路在胃癌的发生发展中起着重要的作用。PIK3CA 是编码 PI3K 催化亚单位 p110 的基因,在胃癌细胞株和肿瘤组织中经常发生突变,PIK3CA 扩增也与胃癌患者的不良预后有关^[28]。PTEN 被认为是内源性 VEGF 介导的信号转导的负调控因子,PTEN 的失活与 VEGF 的表达增加有关,从而促进胃癌细胞的血管生成^[29]。PTEN 失活也导致 Akt 的组成性激活,Akt 是一种 PKB 激酶,调节细胞生长、细胞死亡和细胞周期。在胃癌组织中,Akt 磷酸化水平的升高与胃癌患者的不良预后之间存在着显著的相关性^[28]。

综上,通过网络药理学技术初步推测健脾养胃方具有诱导细胞凋亡,阻滞细胞周期和分化,抑制细胞增殖和侵袭的作用。从系统生物学的角度诠释健脾养胃方防治胃癌的机制必将推动中医药理论和实践的发展。

参考文献

- [1] 贾志田. 中医健脾养胃法在胃癌治疗中的价值评价[J]. 中国医药指南, 2018, 16(31): 163 - 164.
- [2] 汤汇涓,舒鹏. 中医健脾养胃法在胃癌治疗中的应用探讨[J]. 湖南中医药大学学报, 2016, 36(4): 42 - 44.
- [3] 孔颖泽,吕新华,凌扬. 健脾养胃法在胃癌术后应用探析[J]. 内蒙古中医药, 2015, 34(2): 142 - 143.
- [4] 戈宝红,李东芳. 运用健脾法治疗中晚期胃癌研究进展[J]. 中医药导报, 2016, 22(22): 35 - 37.
- [5] 肖沛玲,李东芳. 健脾化痰法治疗胃癌的研究进展[J]. 中医药导报, 2018, 24(22): 39 - 41, 44.
- [6] 张元清,舒鹏. 运用健脾法治疗胃癌研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(2): 69 - 71.
- [7] 孙昊. 中药健脾养胃方治疗胃癌作用机理的研究[J]. 中国处方药, 2016, 14(9): 101 - 102.
- [8] 李泮霖,苏薇薇. 网络药理学在中药研究中的最新应用进展[J]. 中草药, 2016, 47(16): 2938 - 2942.
- [9] 张雨,李恒,李克宁,等. 复方中药网络药理学研究进展[J]. 中成药, 2018, 40(7): 1584 - 1588.
- [10] 董福易. 中药健脾养胃方治疗胃癌作用机理的研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2012.
- [11] 付丽娜,刘维红,徐爱军,等. 槲皮素对人胃癌 MKN45 细胞的抑制作用研究[J]. 现代药物与临床, 2017, 32(6): 983 - 986.
- [12] 杜标炎,周瑶,谭宇蕙,等. 山柰酚对人胃癌 MGC - 803 细胞的生长抑制及诱导凋亡作用[J]. 肿瘤, 2010, 30(6): 477 - 480.
- [13] 方申存,戴伟,吴昊,等. 芍药苷对人胃癌 SGC7901/VCR 细胞增殖抑制作用及其机制研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2010, 30(5): 636 - 640.
- [14] 王娟,刘军权,陈复兴,等. β -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.
- [15] 刘包欣子,王瑞平,邹玺,等. 常春藤皂苷元对胃癌细胞 MGC - 803 增殖、黏附、侵袭和迁移能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 212 - 215.
- [16] 王宏伟,李海龙,陈凤琴,等. 黄芩苷抑制人胃癌 MGC - 803 和 BGC - 823 细胞的迁移及分子机制[J]. 肿瘤, 2016, 36(10): 1114 - 1121.

复发性流产相关基因的生物信息学分析

奚婷,包晓霞,许梦白,刘柳青,刘雁峰

(北京中医药大学东直门医院,北京 100700)

摘要: **目的** 归纳复发性流产相关基因的文献,并进行生物信息学分析,为进一步的研究和临床治疗提供参考依据。**方法** 检索 CNKI、万方、Pubmed 数据库从 2005 年 1 月 1 日—2018 年 5 月 30 日发表的文献,统计出复发性流产的相关基因,并用 DAVID 在线数据库对基因进行基因本体论(GO)富集分析、京都基因与基因组百科(KEGG)通路分析、STRING 在线数据库构建蛋白-蛋白互作网络图(PPI),Cytoscape 3.7.0 软件进行可视化分析。**结果** 筛选出 674 篇文献,摘录复发性流产相关基因 170 个,DAVID 不同分类 149 种,KEGG 通路 60 种,这些基因主要参与炎症反应、免疫应答、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控/负调控、血管生成、T 细胞增殖等有关。KEGG 通路主要是参与癌症中的蛋白聚糖、细胞因子-细胞因子受体相互作用、Jak-STAT 信号通路、HIF-1 信号通路、炎症性肠病、内风湿关节炎等。其中 129 个参与构建 PPI,进一步可视化分析筛选出节点度数排前 10 的基因:IL6、IL10、VEGFA、TGFβ1、IFNG、TP53、IL1β、STAT3、CCL2、TLR4。**结论** 所筛选复发性流产的关键基因有助于进一步研究该病的发病机制,同时为药物防治该病提供新的靶点。

关键词: 复发性流产;生物信息学;基因

中图分类号:R271.914.21

文献标志码:A

文章编号:1673-7717(2020)05-0142-07

Bioinformatics Analysis of Genes Related to Recurrent Spontaneous Abortion

XI Ting,BAO Xiaoxia,XU Mengbai,LIU Liuqing,LIU Yanfeng

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81473721)

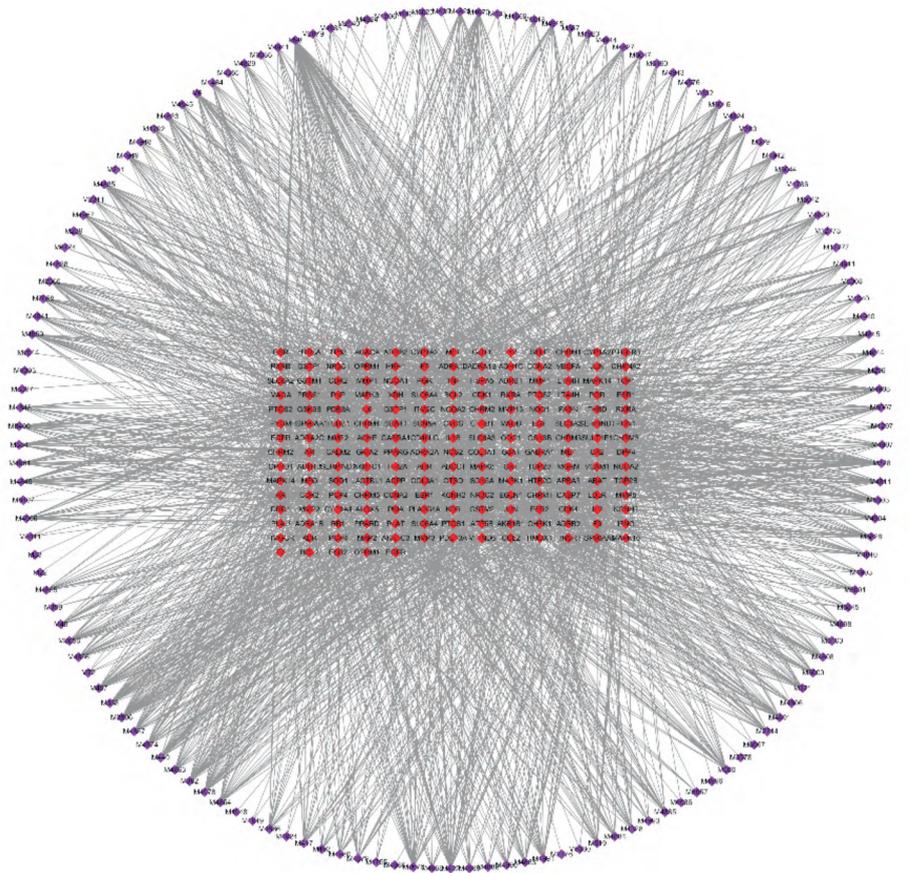
作者简介:奚婷(1991-),女,重庆人,博士研究生,研究方向:中医药防治女性不孕症、月经不调、更年期综合征等。

通讯作者:刘雁峰(1963-),女,北京人,主任医师,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中医药防治女性不孕症、月经不调、更年期综合征等。E-mail:liuyaf8888@sina.com。

- [17] 蒋先仲,郭红莲. 基于数据挖掘的抗胃癌植物类中药组方设计[J]. 中国药房,2018,29(24):3407-3411.
- [18] WANG J, CUI S, ZHANG X, et al. High expression of heat shock protein 90 is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in patients with advanced gastric cancer [J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62876.
- [19] VASEGHI MAGHVAN P, REZAEI-TAVIRANI M, ZALI H, et al. Network analysis of common genes related to esophageal, gastric, and colon cancers [J]. Gastroenterol Hepatol Bed Bench, 2017, 10(4): 295-302.
- [20] CASTANO-RODRIGUEZ N, KAAKOUSH NO, GOH KL, et al. The NOD-like receptor signalling pathway in Helicobacter pylori infection and related gastric cancer: a case-control study and gene expression analyses [J]. PLoS One, 2015, 10(1): e0117870.
- [21] XIA X, CUI J, WANG HY, et al. NLRX1 negatively regulates TLR-induced NF-kappaB signaling by targeting TRAF6 and IKK [J]. Immunity, 2011, 34(6): 843-853.
- [22] ZHANG J, WU Y, LIN YH, et al. Prognostic value of hypoxia-inducible factor-1 alpha and prolyl 4-hydroxylase beta polypeptide overexpression in gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(22): 2381-2391.
- [23] GAN L, MENG J, XU M, et al. Extracellular matrix protein 1 promotes cell metastasis and glucose metabolism by inducing integrin beta4/FAK/SOX2/HIF-1alpha signaling pathway in gastric cancer [J]. Oncogene, 2018, 37(6): 744-755.
- [24] CHEN L, HAN L, ZHANG K, et al. VHL regulates the effects of miR-23b on glioma survival and invasion via suppression of HIF-1alpha/VEGF and beta-catenin/Tcf-4 signaling [J]. Neuro Oncol, 2012, 14(8): 1026-1036.
- [25] CLARA CA, MARIE SK, DE ALMEIDA JR, et al. Angiogenesis and expression of PDGF-C, VEGF, CD105 and HIF-1alpha in human glioblastoma [J]. Neuropathology, 2014, 34(4): 343-352.
- [26] NAN Y, GUO H, GUO L, et al. MiRNA-451 Inhibits Glioma Cell Proliferation and Invasion Through the mTOR/HIF-1alpha/VEGF Signaling Pathway by Targeting CAB39 [J]. Hum Gene Ther Clin Dev, 2018, 29(3): 156-166.
- [27] HE Y, GE Y, JIANG M, et al. MiR-592 Promotes Gastric Cancer Proliferation, Migration, and Invasion Through the PI3K/AKT and MAPK/ERK Signaling Pathways by Targeting Spry2 [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(4): 1465-1481.
- [28] SINGH SS, YAP WN, ARFUSO F, et al. Targeting the PI3K/Akt signaling pathway in gastric carcinoma: A reality for personalized medicine? [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(43): 12261-12273.
- [29] FUJITA H, MIYADERA K, KATO M, et al. The novel VEGF receptor/MET-targeted kinase inhibitor TAS-115 has marked in vivo antitumor properties and a favorable tolerability profile [J]. Mol Cancer Ther, 2013, 12(12): 2685-2696.

健脾养胃方防治胃癌的网络药理学机制研究

(正文见 136 - 142 页)



紫色表示有效化学成分,红色表示靶点,节点的大小与节点的度呈正比例关系

图1 健脾养胃方有效化学成分-靶点网络

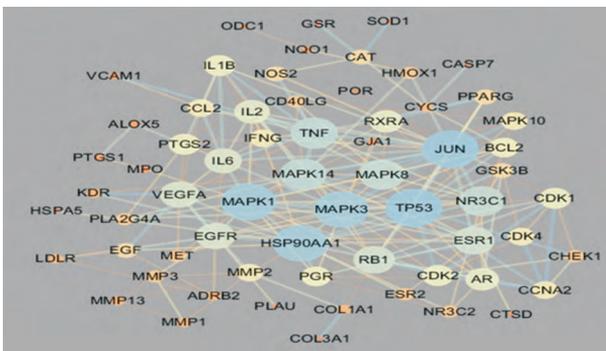


图3 健脾养胃方 PPI 网络图

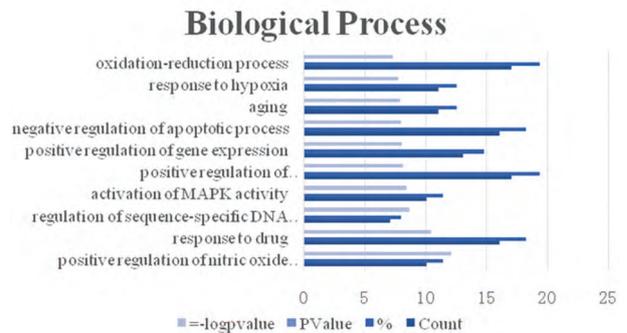


图5 生物过程富集分析

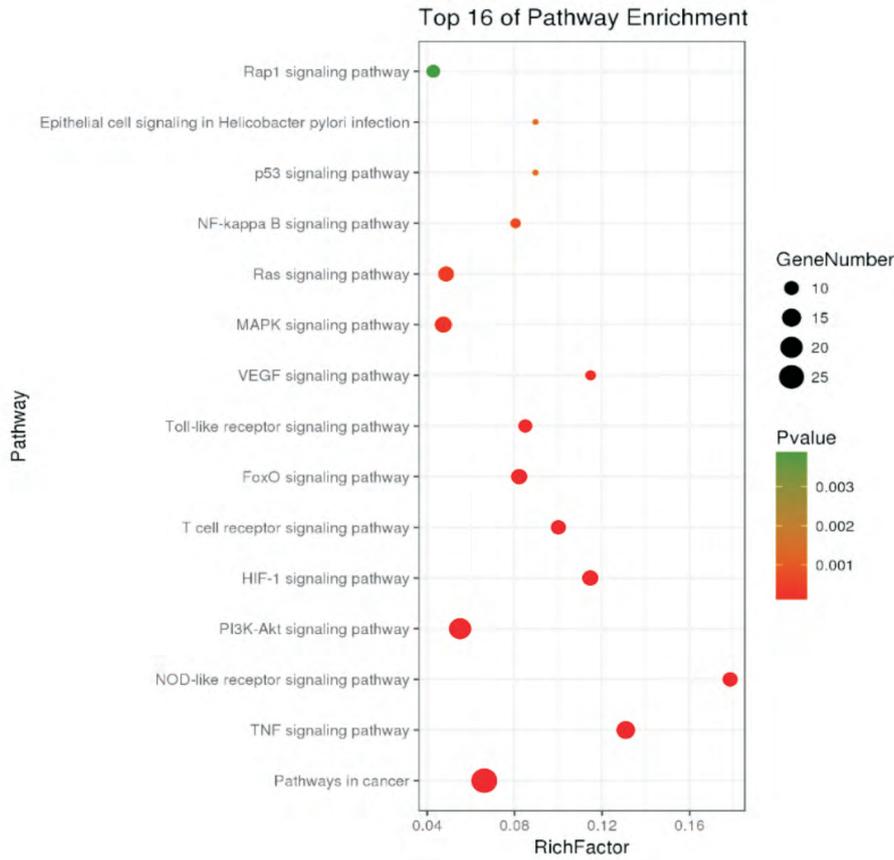


图6 前16条KEGG通路富集分析

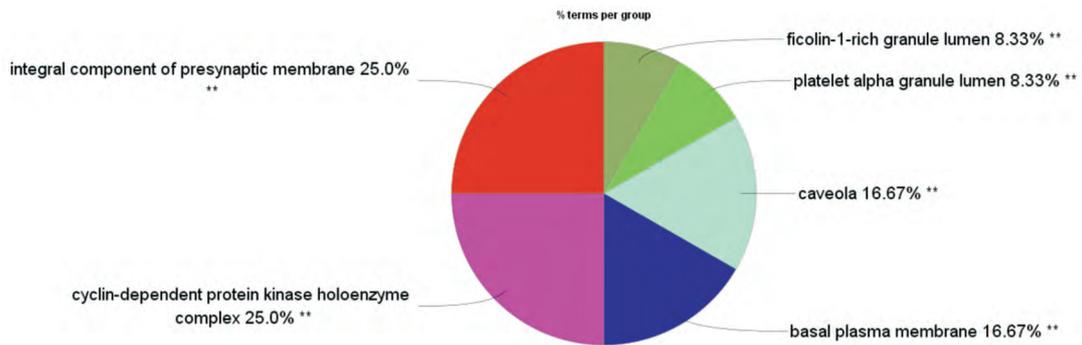


图7 细胞组成富集分析

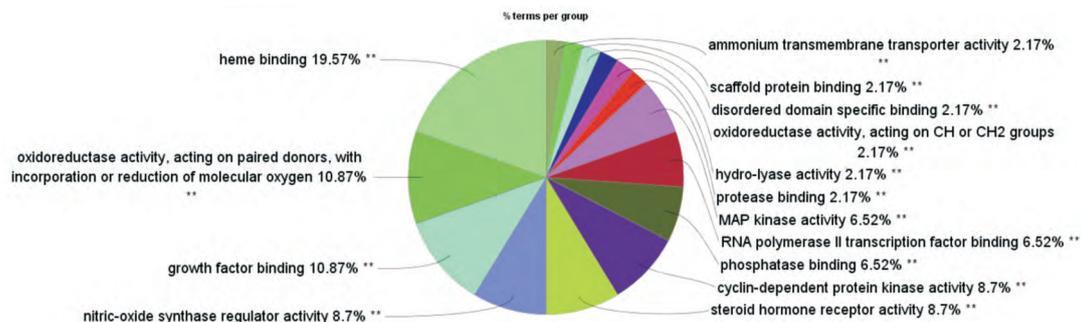


图8 分子功能富集分析