

# 基于网络药理学和分子对接技术探讨芪竹方治疗胃癌的分子机制

赵冲 陈健忠

**[摘要]** **目的** 通过网络药理学和分子对接方法分析芪竹方治疗胃癌的作用机制。**方法** 利用中药系统药理学数据库和分析平台筛选芪竹方的活性成分和对应人类靶点,利用 GeneCards 和 DisGeNET 数据库鉴定胃癌相关基因,筛选芪竹方治疗胃癌的潜在基因。利用 STRING 数据库获取蛋白互作数据,DAVID 在线工具进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析,利用 Cytoscape3.9.1 软件构建药材-成分-靶点网络、蛋白互作网络及药材-成分-靶点-通路网络并进行拓扑学分析。**结果** 共筛选到芪竹方活性成分 118 个及其人类靶点 245 个,数据库鉴定到胃癌相关基因 3 376 个,取交集后得到 83 个潜在靶点。功能富集分析得到 118 条相关通路和 438 条 GO 项,其主要与癌症相关通路、信号转导相关通路、基因表达调控、细胞凋亡及缺氧反应等有关。网络图拓扑学分析显示排名靠前的 6 个核心靶点包括 AKT1、JUN、CASP3、CCND1、MYC 和 IL-6,及 3 个关键活性成分 quercetin、luteolin 和 kaempferol。分子对接结果显示这些核心靶点与活性成分间具有较强的结合能力。**结论** 利用网络药理学和分子对接揭示了芪竹方治疗胃癌的潜在分子机制,为其应用于临床提供了一定的理论依据。

**[关键词]** 网络药理学; 分子对接; 芪竹方; 胃癌; 蛋白互作

**Investigation of the molecular mechanism of Qizhu formula in the treatment of gastric cancer based on network pharmacology and molecular docking** ZHAO Chong, CHEN Jianzhong. Department of General Surgery, The Second People's Hospital of Fuyang District, Hangzhou 311404, China.

**[Abstract]** **Objective** To analyze the mechanism of Qizhu formula in treating gastric cancer by network pharmacology and molecular docking method. **Methods** The active components and corresponding human targets of Qizhu formula were screened using the Traditional Chinese Medicine System Pharmacology database and analysis platform. The GeneCards and DisGeNET databases were used to identify gastric cancer-related genes, and the candidate targets of Qizhu formula for the treatment of gastric cancer were identified. The STRING database was used to obtain protein-protein interaction data, the DAVID online tool was used for Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis, and the Cytoscape 3.9.1 software was used to construct the herb-compound-target network, protein-protein interaction network and herb-compound-target-pathway network as well as performing topological analysis. **Results** A total of 118 active ingredients of Qizhu formula and 245 human targets were screened, 3376 gastric cancer-related genes were identified from the databases, and 83 potential targets were obtained after taking the intersection. Functional enrichment analysis revealed 118 related pathways and 438 GO items, which were mainly related to cancer-related pathways, signal transduction-related pathways, gene expression regulation, apoptosis and hypoxia response. The network topology analysis found the top six core targets including AKT1, JUN, CASP3, CCND1, MYC and IL-6, and 3 key active compounds including quercetin, luteolin and kaempferol. Molecular docking results showed that these core targets and active ingredients have strong binding ability. **Conclusion** The potential molecular mechanism of Qizhu formula in the treatment of gastric cancer was revealed by network pharmacology and molecular docking, which provided a theoretical basis for its clinical application.

DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2023.006.005

作者单位:311404 浙江杭州,杭州市富阳区第二人民医院普外二科

**[Key words]** network pharmacology; molecular docking; Qizhu formula; gastric cancer; protein-protein interaction

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一。根据2020年全球癌症统计数据,胃癌的发病率位居第五,死亡率位居第四,对人们的生命健康构成严重威胁<sup>[1]</sup>。目前,手术切除、放疗、免疫治疗、分子靶向药物和化疗是该病最有效的治疗方法<sup>[2]</sup>,但胃癌的预后很差。

中医治疗胃癌已有数千年历史,不仅可以针对局部治疗,也可以调节全身状态以控制肿瘤的发生发展<sup>[3]</sup>。芪竹方由黄芪、玉竹、灵芝、薏苡仁、半夏、白花蛇舌草、仙鹤草、莪术等8味药材组成,具有益气养阴、化痰祛瘀、清热解毒之功效。研究显示芪竹方对胃癌细胞具有显著的抑制作用,也可以改善早期胃癌胃黏膜剥离术后症状并降低其复发率<sup>[4]</sup>。然而,芪竹方治疗胃癌的分子机制尚不明确,仍需进一步研究。本次研究旨在通过网络药理学和分子对接技术探讨芪竹方治疗胃癌的核心活性成分、靶点和关键通路,为后续研究提供参考。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 本次研究于2022年3月30日至2022年9月30日进行,研究单位为杭州市富阳区第二人民医院。

1.2 芪竹方的活性成分及其靶标鉴定 利用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP, <https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>),检索芪竹方所含8种药材(黄芪、玉竹、灵芝、薏苡仁、莪术、白花蛇舌草、仙鹤草、半夏)的成分,以药物口服生物利用度 $\geq 30\%$ 和类药性 $\geq 0.18$ 筛选活性成分。同时,利用TCMSP平台获取活性成分的潜在靶点,通过Uniprot数据库统一靶点标记,并排除非人类靶点。

1.3 胃癌相关基因鉴定 胃癌相关基因通过人类基因组注释数据库(GeneCards, <https://www.genecards.org/>)和DisGeNET(<https://www.disgenet.org/home/>)数据库进行检索,以“Gastric cancer”为关键词检索胃癌相关的靶点基因。将两个数据库检索得到的胃癌相关基因导入Evenn在线工具(<http://www.ehbio.com/test/venn/>)中获得交集,定义为最终的胃癌相关基因。

1.4 芪竹方治疗胃癌的潜在靶点及其蛋白互作分析 通过Evenn在线工具获得胃癌相关基因和芪竹方靶点的交集,定义为芪竹方治疗胃癌的潜在靶点,并构建韦恩图。将潜在靶点导入STRING(<https://cn.string-db.org/>)数据库,设置物种为“Homo sapiens”和最低相互作用阈值为“high confi-

dence”(0.7),其余参数设为默认,并导出蛋白互作数据。将蛋白互作数据导入Cytoscape 3.9.1软件构建蛋白互作网络图。

1.5 网络构建及拓扑学分析 采用Cytoscape 3.9.1软件进行网络构建和拓扑学分析。本文共构建3个关键网络图,包括芪竹方的药材-成分-靶点网络图,芪竹方治疗胃癌潜在靶点的蛋白互作网络图及芪竹方治疗胃癌的药材-成分-靶点-通路网络图。采用Analyze Network插件分析各网络拓扑学结构,包括介度中心性、接近中心性及节点度值等。

1.6 功能富集分析 将芪竹方治疗胃癌的潜在靶点导入用于注释、可视化和集成的数据库(DAVID, <https://david.ncifcrf.gov/>)进行基因本体(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。设置物种为“Homo sapiens”。根据P值筛选前20条KEGG通路及分子功能、细胞组分和生物过程各自前10项富集结果,利用R语言绘制KEGG通路气泡图和GO富集柱状图。以前20条通路构建芪竹方治疗胃癌的药材-成分-靶点-通路网络图。

1.7 分子对接 根据芪竹方治疗胃癌的药材-成分-靶点-通路网络图,并进行拓扑学分析结果,以节点度值筛选前6个核心基因,包括AKT1、JUN、CASP3、CCND1、MYC、IL-6,并获取这些核心基因的对活性成分。通过RCSB蛋白质数据库(RCSB PDB, <https://www.rcsb.org/>)获取相关蛋白的结构文件,并利用PubChem数据库下载对活性成分的结构文件,将蛋白配体和活性成分文件导入CB-DOCK2在线工具(<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/index.php>)进行分子对接分析,下载结合能最低的最优对接构想和结合能。

## 2 结果

2.1 芪竹方的活性成分及其靶点分析结果 共筛选到芪竹方活性成分118个及其人类靶点245个,数据库鉴定到胃癌基因3376个,取交集后得到83个潜在靶点。

2.2 芪竹方治疗胃癌的蛋白互作关系及功能富集分析 芪竹方治疗胃癌83个潜在靶点的蛋白互作网络图可见,包含79个节点和402条互作信息,平均度值为10.18,按度值排名靠前的6个节点分别为AK1、JUN、CASP3、CCND1、MYC和IL-6。芪竹方治疗胃癌的潜在靶点主要富集于肿瘤相关通路、信号转导相关通路及病毒相关通路。功能富集分析得

到118条相关通路和438条GO项,主要富集于基因表达调控、细胞凋亡及缺氧反应等过程。

### 2.3 芪竹方治疗胃癌的药材-成分-靶点-通路网络图拓扑学分析见封三图5

由封三图5可见,该网络图包含7种药材、25种活性成分、20个显著富集的KEGG通路及61个靶点。节点度值排名靠前的6个核心靶点分别为AKT1、JUN、CASP3、CCND1、MYC和IL-6。

### 2.4 芪竹方治疗胃癌的关键靶点的分子对接结果见表1和封三图6

表1 芪竹方治疗胃癌关键成分-靶点分子对接结果

靶点	蛋白质 ID	成分 ID	成分名称	Vina 评分/ kcal/mol
AKT1	1h10	MOL000098	quercetin	-6
AKT1		MOL000422	kaempferol	-5.7
AKT1		MOL002714	baicalein	-6.7
AKT1		MOL000006	luteolin	-6.1
JUN	1fos	MOL000098	quercetin	-5.4
JUN		MOL000422	kaempferol	-5.1
JUN		MOL000006	luteolin	-5.5
JUN		MOL000358	beta-sitosterol	-5.8
JUN		MOL000392	formononetin	-5.1
CASP3	1cp3	MOL000098	quercetin	-7.8
CASP3		MOL000422	kaempferol	-7.9
CASP3		MOL000006	luteolin	-8.1
CASP3		MOL000358	beta-sitosterol	-6.7
CASP3		MOL002714	baicalein	-8
CCND1		MOL000098	quercetin	-7.2
CCND1		MOL000006	luteolin	-7.3
MYC	1a93	MOL000098	quercetin	-5.1
IL-6	1alu	MOL000006	luteolin	-6.3
IL-6		MOL000098	quercetin	-6.6

由表1可见,4种成分靶向AKT1,5种活性成分靶向JUN,5种成分靶向CASP3,2种成分靶向CCND1,1种成分靶向MYC,2种成分靶向IL-6。CASP3与luteolin的结合能力最强;JUN和kaempferol及formononetin的结合能力相对较弱;CASP3与各活性成分均显示出较高的结合能力。

由封三图6可见,CASP3与3种活性成分luteolin、quercetin和kaempferol的对接3D图。

## 3 讨论

目前,临床上治疗胃癌以传统的手术、放化疗

等治疗方法为主,但治疗效果欠佳。胃癌在中医中归属“反胃”“噎膈”“胃脘痛”等范畴,中医治疗理念多注重整体观念及辨证论治,以中医理论为依据采用中医药对胃癌进行干预有其独特优势并获得临床广泛认可,可以有效提高机体免疫力和改善胃癌引起的症状,提高患者生存质量。芪竹方的抗肿瘤活性及其联合化疗对晚期胃癌的作用已获证实,但受限于复杂的化学成分,芪竹方治疗胃癌的分子机制尚未得到充分的阐明,无法为其临床应用提供有力的理论支撑。本次研究采用网络药理学揭示芪竹方治疗胃癌的活性成分、靶点和通路间的网络关系,探究芪竹方治疗胃癌的分子机制,并利用分子对接技术进一步揭示核心靶点和活性成分的结合活性。

本次研究通过TCMSP数据库筛选到芪竹方118个活性成分及245个人类靶点,同时鉴定到3376个胃癌相关的基因,并最终获得83个芪竹方治疗胃癌的潜在靶点。通过网络拓扑学分析表明quercetin、luteolin和kaempferol在芪竹方发挥抗癌活性的关键活性成分。luteolin具有抗炎、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤作用等多种生物学功能,且luteolin可以抑制胃癌细胞的增殖<sup>[5]</sup>。瑞典的一项临床研究表明,膳食摄入quercetin可以降低患胃癌的风险,并且其保护作用在暴露于氧化应激的女性中尤为明显<sup>[6]</sup>。quercetin通过抑制增殖和促进细胞凋亡对胃癌细胞发挥抗肿瘤作用<sup>[7]</sup>。kaempferol具有良好的口服生物利用度和广泛的药理活性,包括抗氧化、抗炎和抗肿瘤活性<sup>[8]</sup>,kaempferol能够通过抑制增殖和转移、诱导细胞周期停滞、促进细胞凋亡和自噬性细胞死亡来发挥抗肿瘤作用<sup>[9]</sup>。

基于网路药理学分析,本文进一步揭示了芪竹方治疗胃癌的核心靶点,包括AKT1、JUN、CASP3、CCND1、MYC和IL-6等。这些基因广泛参与了肿瘤和信号转导等相关通路,在芪竹方发挥抗癌活性过程中发挥了重要作用。AKT1在细胞存活、细胞周期、侵袭和代谢的调节中发挥作用。研究发现AKT1突变与胃癌细胞周期异常及胃癌患者预后有关<sup>[10]</sup>,而体内外敲减AKT1表达会提高胃癌细胞的对顺铂的化学敏感性<sup>[11]</sup>。AKT1与PI3K、PTEN和mTOR等构成的重要信号通路对维持细胞存活和凋亡之间的平衡具有重要作用<sup>[12]</sup>,这解释了AKT1与癌症发生发展之间的重要关系。JUN可能通过为细胞存活提供信号而作为癌基因发挥作用,并且在侵袭

性人类癌症中高度过表达<sup>[13]</sup>。CASP3能够特异性地剪切多聚ADP核糖聚合酶和乙酰基-DEVD-7-氨基-4-甲基香豆素,从而导致DNA裂解促进细胞凋亡<sup>[14]</sup>。CCND1通常在人类肿瘤中高度表达<sup>[15]</sup>。作为主要的转录因子,MYC主要参与各种癌细胞的重编程、增殖和化学抗性<sup>[16]</sup>。IL-6的异常产生和信号传导与包括胃癌在内的多种癌症类型的肿瘤生成和不良预后密切相关<sup>[17]</sup>。IL-6通过与IL-6 $\alpha$ 链和一个常见的细胞因子受体信号转导亚基gp130结合发挥其作用,并导致酪氨酸激酶的Janus激酶家族以及信号转导和转录激活因子的激活,尤其是STAT3<sup>[18]</sup>。

综上所述,本次研究结合网络药理学和分子对接技术揭示了芪竹方治疗胃癌的物质基础、潜在靶点及可能涉及的细胞通路,为芪竹方在胃癌治疗的临床应用提供了理论支持。但是,本次研究在揭示相关机制的过程中缺乏体内外实验验证,因此,后续需要进一步开展相关的生物学实验进行验证,包括基于代谢组学研究的芪竹方活性成分研究和基于转录组学或蛋白组学的靶点和通路验证实验等。

#### 参考文献

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249.
- Song Z, Wu Y, Yang J, et al. Progress in the treatment of advanced gastric cancer[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 1010428317714626.
- Liao KF, Chiu TL, Huang SY, et al. Anti-cancer effects of radix angelica sinensis (danggui) and n-butylidene-phthalide on gastric cancer: Implications for redd1 activation and mtor inhibition[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(6):2231-2246.
- 陆喜荣, 彭惠平, 徐倩菲, 等. 芪竹方改善早期胃癌ESD后症状及预防复发的临床观察[J]. *南京中医药大学学报*, 2020, 36(4):454-457.
- Ren LQ, Li Q, Zhang Y. Luteolin suppresses the proliferation of gastric cancer cells and acts in synergy with oxaliplatin[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:9396512.
- Ekstrom AM, Serafini M, Nyren O, et al. Dietary quercetin intake and risk of gastric cancer: Results from a population-based study in Sweden[J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(2):438-443.
- Shang HS, Lu HF, Lee CH, et al. Quercetin induced cell apoptosis and altered gene expression in ags human gastric cancer cells[J]. *Environ Toxicol*, 2018, 33(11):1168-1181.
- Yang L, Li H, Yang M, et al. Exploration in the mechanism of kaempferol for the treatment of gastric cancer based on network pharmacology[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:5891016.
- Song H, Bao J, Wei Y, et al. Kaempferol inhibits gastric cancer tumor growth: An in vitro and in vivo study[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(2):868-874.
- Ghatak S, Lalnunhlimi S, Lalrohli F, et al. Novel akt1 mutations associated with cell-cycle abnormalities in gastric carcinoma[J]. *Per Med*, 2018, 15(2):79-86.
- Zhou W, Fu XQ, Liu J, et al. Rnai knockdown of the akt1 gene increases the chemosensitivity of gastric cancer cells to cisplatin both in vitro and in vivo[J]. *Regul Pept*, 2012, 176(1-3):13-21.
- Riquelme I, Tapia O, Espinoza JA, et al. The gene expression status of the PI3K/AKT/MTOR pathway in gastric cancer tissues and cell lines[J]. *Pathol Oncol Res*, 2016, 22(4):797-805.
- Zhang Y, Shen WL, Shi ML, et al. Involvement of aberrant miR-139/jun feedback loop in human gastric cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(2):481-488.
- Zhou Z, Xu S, Jiang L, et al. A systematic pan-cancer analysis of casp3 as a potential target for immunotherapy [J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 9:776808.
- Qie S, Diehl JA. Cyclin d1, cancer progression, and opportunities in cancer treatment[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2016, 94(12):1313-1326.
- Fatma H, Maurya SK, Siddique HR. Epigenetic modifications of C-myc: Role in cancer cell reprogramming, progression and chemoresistance[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 83:166-176.
- Wu X, Tao P, Zhou Q, et al. IL-6 secreted by cancer-associated fibroblasts promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis of gastric cancer via JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(13): 20741-20750.
- Bromberg J, Wang TC. Inflammation and cancer: IL-6 and STAT3 complete the link[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(2): 79-80.

(收稿日期 2022-10-13)

(本文编辑 高金莲)