

参苓白术散治疗结直肠癌的网络药理学机制及分子靶点探讨

田婷婷¹, 刘璇¹, 叶涛^{2,3}, 杨柱^{1,3}, 龙奉玺^{1,3}, 吴文宇^{2,3}, 唐东昕^{1,3*}

¹贵州中医药大学; ²贵州中医药大学第一附属医院; ³贵州省中医肿瘤传承与科技创新人才基地, 贵阳 550002

摘要:为探究参苓白术散(Shenling Baizhu powder, SLBZP)治疗结直肠癌的作用机制。运用网络药理学的方法,通过TCMSP数据库收集,筛选SLBZP的活性成分并获得作用靶点,GEO数据库筛选获得CRC患者与健康个体之间的差异表达基因作为CRC的相关靶点。借助Cytoscape软件构建药物成分、疾病靶点网络,Bisogenet构建蛋白质相互作用(PPI)网络,以识别SLBZP作用于CRC的候选靶点。通过基因本体(GO)功能富集京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析核心基因的生物学功能及通路富集情况。Cytoscape软件构建了靶点-途径网络,根据Degree筛选关键靶基因。通过分析得到SLBZP治疗CRC的核心靶点165个,发现核心靶点功能注释与转录因子的活性、蛋白质稳定性调节、泛素蛋白连接酶结合等有关。PI3K-Akt信号通路,PD-L1/PD-1途径,病毒致癌等二十个途径均得到显著的富集。AKT1、TP53、PIK3R1为核心基因,MAPK3、NFKB1、CCND1、MAPK1、RELA、CDKN1A、MYC、STAT3、MDM2、JUN、RB1等是SLBZP网络途径中治疗CRC的关键基因。综上SLBZP对CRC的治疗作用可能与特定的生物学过程及相关途径调节炎性反应、优化肠道菌群结构发挥治疗作用。通过网络药理学分析评估,SLBZP复杂的作用机理及作用靶标得到了进一步的揭示,对CRC治疗意义重大。

关键词:参苓白术散; 结直肠癌; 网络药理; 作用机制; 靶基因; 信号途径

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)8-1401-14

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.8.016

Network pharmacological mechanism and molecular targets of Shenling Baizhu Powder in treating colorectal cancer

TIAN Ting-ting¹, LIU Xuan¹, YE Tao^{2,3}, YANG Zhu^{1,3}, LONG Feng-xi^{1,3}, WU Wen-yu^{2,3}, TANG Dong-xin^{1,3*}

¹Guizhou University of Traditional Chinese Medicine; ²The First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine;

³Guizhou Province TCM Tumor Inheritance and Technology Innovation Talent Base, Guiyang 550002, China

Abstract: To explore the mechanism of Shenling Baizhu Powder (SLBZP) in the treatment of colorectal cancer. Using the method of network pharmacology, the active ingredients of SLBZP were collected and screened through the TCMSP database and the targets were obtained. The GEO database was screened to obtain differentially expressed genes between CRC patients and healthy individuals as the relevant targets of CRC. Cytoscape software was used to construct a network of drug components and disease targets. Bisogenet was used to construct a protein interaction (PPI) network to identify candidate targets for SLBZP acting on CRC. Through gene ontology (GO) function enrichment, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomics (KEGG) pathway enrichment analysis was used for biological functions and pathway enrichment of core genes. Cytoscape software was used to constructs a target-pathway network and screen key target genes according to degree. Through analysis, 165 core targets of SLBZP for the treatment of CRC were found, and it was found that the functional annotation of core targets was related to transcription factor activity, protein stability regulation, and ubiquitin protein ligase binding. Twenty pathways including PI3K-Akt signaling pathway, PD-L1/PD-1 pathway, and viral carcinogenesis are all significantly enriched. AKT1, TP53, PIK3R1 are the core genes, and MAPK3, NFKB1, CCND1, MAPK1, RELA, CDKN1A, MYC, STAT3, MDM2, JUN, RB1, etc. are the key genes for the treatment of CRC in the SLBZP network pathway. In summary, the therapeutic effect of SLBZP on CRC may be related to specific biological processes and related pathways to regulate inflammatory responses and optimize the

收稿日期: 2020-04-07 接受日期: 2021-05-28

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金(81960818); 贵阳市科学技术局, 贵州中医药大学第一附属医院大健康科技合作项目(筑科合同[2019]9-2-8号)

*通信作者 Tel: 86-851-85652079; E-mail: tangdongxin@sina.com

structure of intestinal flora to play a therapeutic role. Through network pharmacological analysis and evaluation, the complex mechanism and targets of SLBZP have been further revealed, which is of great significance to the treatment of CRC.

Key words: Shenling Baizhu Powder; colorectal cancer; network pharmacology; mechanism of action; target gene; signal pathway

结直肠癌(CRC)作为目前全球最常见的第三大恶性肿瘤,其发病率和死亡率持续增加,五年生存率一直不理想^[1]。从表观遗传学改变来看,CRC的发生发展需要经历10~15年的时间,但饮食偏嗜、红肉过多摄入、年龄增加、炎性肠病、肠道微生态失衡等危险因素可快速的促进其发展^[2,3]。目前手术、放化疗、靶向治疗为CRC的主要治疗方法,但此类治疗手段存在的毒副作用不容忽视,并对患者的生活质量带来了极大的影响,严重制约了其疗效。

中药(traditional Chinese medicine, TCM)作为治疗肿瘤疾病的替代药,在治疗CRC中优势明显,并与放化疗联合使用可显著提高患者1~3年的生存率。参苓白术散(SLBZP)一方出自《太平惠民和剂局方》,主要由人参(Ginseng Radix et Rhizoma)、茯苓(Poria)、白术(Rhizoma Atractylodis Macrocephala)、白扁豆(Lablab Semen Album)、莲子(Nelumbinis Semen)、山药(Dioscoreae Rhizoma)、砂仁(Amomi Fructus)、薏苡仁(Coicis Semen)、桔梗(Platycodonis Radix)、甘草(Glycyrrhizae Radix et Rhizoma)十味药物组成。SLBZP一方包含大量皂苷、黄酮、甾体、多糖、三萜类等化合物。临幊上,SLBZP联合放化疗使用,可有效改善CRC患者生活质量,提高患者免疫力,减轻放化疗的毒副作用。Wang等^[7]通过临床随机对照研究分析SLBZP联合化疗对CRC患者术后免疫功能及生活质量的影响发现,经过了12周的治疗后,较化疔组相比中药联合化疗显著抑制CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺的表达、增加CD8⁺表达、提高KPS评分、增加对疾病的控制率(88.10%)、改善化疗后毒副反应、提高患者生活质量。Zhang等^[4]运用SLBZP联合mFOLFOX6方案对CRC术后患者进行治疗,显著增强了机体免疫力,改善了化疗后的毒副作用。人参、茯苓作为SLBZP中的君药,主补人体五脏、调理脾胃气机。现代研究表明,人参主要成分人参皂甙Rb2不仅能作用于TGF-β1/Smad信号通路抑制人CRC细胞的生长、粘附、EMT及转移^[5],还可激活P53途径,增加促凋亡因子Bax的水平,促进HCT-116、SW620细胞的凋亡^[6];茯苓多糖(PCP)作为茯苓活性成分含量最丰

富的一种(约占总成分的84%),具有广泛的抗肿瘤、免疫调节、抗炎等生物学活性。动物实验也证明^[7],SLBZP可有效减少MDSC的浸润,改善免疫抑制的肿瘤微环境;并通过下调TGF-β1、N-cadherin的水平,上调E-cadherin减轻EMT及β-catenin活化,减轻癌变过程。

中医药是我国的国粹,并经历代医疗实践者不断检验、发展和完善。中药讲究君臣佐使,临床组方常由多味药物配伍而成。这些复杂的药物多具有多活性成分、多作用靶点、多通路调控的特点,可作为治疗复杂疾病的理想选择,但如何较为清晰、客观的挖掘分析各药物活性成分的分子机制及相互作用,成了目前限制我国医药发展的巨大问题。因此,为了解决祖国医学的发展中面临问题,通过网络药理学分析中药药效的方法便应运而生。它作为一种系统网络分析与药理学结合的新方法,可用于通过化合物-靶标-疾病网络阐明药物活性成分的协同作用,预测在分子水平上通过多靶点多通路治疗疾病的潜在机制,了解基因、蛋白、疾病之间的相互作用关系,为复杂中药方剂的药理研究提供了新的可能。

在本次研究中,使用网络药理学方法分析SLBZP的活性成分治疗CRC的分子靶点和机制。并通过GEO数据库获取、筛选CRC患者和健康个体之间的差异表达基因来获得CRC相关靶标,通过GO、KEGG分析得到SLBZP治疗CRC的潜在作用机制。

1 资料及方法

1.1 SLBZP有效成分筛选

借助中药系统药理数据库和分析平台(TCM-SP,<http://tcmsp.com/tcmsp.php>),并根据口服生物利用度(oral bioavailability, OB)≥30%,类药性(drug-like, DL)≥0.18进行筛选^[8]。得到SLBZP药物活性成分190种,其中人参22种、茯苓15种、白术7种、白扁豆1种、莲子11种、山药16种、砂仁10种、薏苡仁9种、桔梗7种、甘草92种。

1.2 确定SLBZP潜在靶点

将190种候选化合物导入到DrugBank数据库中(<https://www.drugbank.ca/>)获取与SLBZP相应

的靶标。除去 44 个与任何靶标无关的化合物后,最终选择了 146 个化合物。并收集了 146 种化合物的相关靶点,确定了 762 个靶点,其中人参 99 种、茯苓 18 种、白术 17 种、白扁豆 21 种、莲子 188 种、山药 66 种、砂仁 43 种、薏苡仁 27 种、桔梗 70 种、甘草 213 种。除去重复后,总共收集了 255 个靶标。

1.3 CRC 相关靶点确定

从 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 获得 CRC 患者的差异表达基因, 系列: GSE25070, 样品: GSM615865、GSM615866、GSM615867、GSM615868、GSM615869、GSM615870、GSM615871、GSM615872、GSM615873、GSM615874、GSM615875、GSM615876、GSM615877、GSM615878、GSM615879、GSM615880、GSM615881、GSM615882、GSM615883、GSM615884、GSM615885、GSM615886、GSM615887、GSM615888、GSM615889、GSM615890、GSM615891、GSM615892、GSM615893、GSM615894、GSM615895、GSM615896、GSM615897、GSM615898、GSM615899、GSM615900、GSM615901、GSM615902、GSM615903、GSM615904、GSM615905、GSM615906、GSM615907、GSM615908、GSM615909、GSM615910、GSM615911、GSM615912、GSM615913、GSM615914、GSM615915、GSM615916。 $P < 0.05$ 和 $|\log_2(\text{倍数变化})| > 1$ 的基因被认为具有明显的差异表达和 CRC 相关靶标。

1.4 网络构建

使用 Cytoscape 3.5.1 软件可视化 SLBZP 成分靶点-CRC 靶点群网络。从蛋白互作数据库 (DIP, Database of Interacting Protein), 生物通用交互数据

集库 (BioGRID, database of protein and genetic interaction), 人蛋白参考数据库 (HPRD, human protein reference database), IntAct 分子相互作用数据库 (IntAct, IntAct molecular interaction database), 分子相互作用数据库 (MINT, molecular interaction database), 生物分子相互作用网络数据库 (BIND) 中获取蛋白相互作用关系, 并借助 Cytoscape 3.5.1 插件 Bisogenet 构建 SLBZP 与 CRC 蛋白质相互作用 PPI 网络。

1.5 网络合并

利用 Cytoscape 软件合并 SLBZP 的预测靶点及 CRC 相关靶点。通过 Cytoscape 插件 CytoNCA 计算节点度值 (degree centrality, DC) 及中间性 (betweenness centrality, BC), 筛选出交互的拓扑网络中重要的靶点。

1.6 生物信息学分析

通过 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/v6.8>) 进一步分析 SLBZP-CRC 靶点的生物学过程及作用机制。根据矫正后 $P < 0.05$ 筛选, 选择了前 20 个 GO 功能类别及显著富集的 KEGG 信号通路。并构建了基因途径网络以筛选 SLBZP 治疗 CRC 的关键靶基因。

2 结果

2.1 化合物-靶点筛选

190 种 SLBZP 化合物 (见表 1) 被选作最终候选活性成分。从 GEO 数据库中确定了 611 个与 CRC 相关的目标。如图 1 所示, 并通过火山图及热图形式显示差异基因的分布情况, 其中红色表示上调基因, 绿色表示下调基因。

表 1 SLBZP 有效成分

Table 1 Active ingredients of SLBZP

序列编号 ID	成分 Ingredient	口服生物 利用度 OB	类药性 DL	药物 Herbal medicine
MOL002773	Beta-carotene	37.18	0.58	白扁豆
MOL000021	14-Acetyl-12-senecioyl-2E,8E,10E-atractylentriol	60.31	0.31	白术
MOL000028	α -Amyrin	39.51	0.76	白术
MOL000049	3β -Acetoxyatractylone	54.07	0.22	白术
MOL000020	12-Senecioyl-2E,8E,10E-atractylentriol	62.4	0.22	白术
MOL000022	14-Acetyl-12-senecioyl-2E,8Z,10E-atractylentriol	63.37	0.3	白术
MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-Propan-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	白术
MOL000072	β -Ethoxy atractylenolide III	35.95	0.21	白术

续表 1 (Continued Tab. 1)

序列编号 ID	成分 Ingredient	口服生物 利用度 OB	类药性 DL	药物 Herbal medicine
MOL000273	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-Dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-methylhept-5-enoic acid	30.93	0.81	茯苓
MOL000275	Trametenolic acid	30.87	0.8	茯苓
MOL000276	7,9(11)-Dehydropachymic acid	35.11	0.81	茯苓
MOL000279	Cerevisterol	37.96	0.77	茯苓
MOL000280	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-Dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid	31.07	0.82	茯苓
MOL000282	Ergosta-7,22E-dien-3beta-ol	43.51	0.72	茯苓
MOL000283	Ergosterol peroxide	40.36	0.81	茯苓
MOL000285	(2R)-2-[(5R,10S,13R,14R,16R,17R)-16-Hydroxy-3-keto-4,4,10,13,14-pentamethyl-1,2,5,6,12,15,16,17-octahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid	38.26	0.82	茯苓
MOL000287	3β-Hydroxy-24-methylene-8-lanostene-21-oic acid	38.7	0.81	茯苓
MOL000289	Pachymic acid	33.63	0.81	茯苓
MOL000290	Poricoic acid A	30.61	0.76	茯苓
MOL000291	Poricoic acid B	30.52	0.75	茯苓
MOL000292	Poricoic acid C	38.15	0.75	茯苓
MOL000296	Hederagenin	36.91	0.75	茯苓
MOL000300	Dehydroeburicoic acid	44.17	0.83	茯苓
MOL001689	Acacetin	34.97	0.24	桔梗
MOL004355	Spinasterol	42.98	0.76	桔梗
MOL004580	cis-Dihydroquercetin	66.44	0.27	桔梗
MOL005996	2-O-Methyl-3-O-β-D-glu-Copyranosyl platycogenate A	45.15	0.25	桔梗
MOL000006	Luteolin	36.16	0.25	桔梗
MOL006026	Dimethyl 2-O-methyl-3-O-α-D-glucopyranosyl platycogenate A	39.21	0.25	桔梗
MOL006070	Robinin	39.84	0.71	桔梗
MOL002419	(R)-Norclaurine	82.54	0.21	莲子
MOL000006	Luteolin	36.16	0.25	莲子
MOL007206	Armeavine	69.31	0.29	莲子
MOL007213	Nuciferin	34.43	0.4	莲子
MOL009155	14-Methyl-24-methylene-dihydromangiferodiol	36.87	0.8	莲子
MOL009157	NSC90384	36.32	0.8	莲子
MOL009160	Loureirin A	40.43	0.19	莲子
MOL009167	(1R)-6,7-dimethoxy-1-(4-methoxybenzyl)-2-methyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline	52.96	0.32	莲子
MOL009172	Pronuciferin	32.75	0.37	莲子
MOL000098	Quercetin	46.43	0.28	莲子
MOL009156	4'-Methyl-N-methylcooclaurine	55.35	0.26	莲子
MOL002879	Diop	43.59	0.39	人参
MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	人参
MOL000358	Beta-sitosterol	36.91	0.75	人参

续表1(Continued Tab. 1)

序列编号 ID	成分 Ingredient	口服生物 利用度 OB	类药性 DL	药物 Herbal medicine
MOL003648	Inermin	65.83	0.54	人参
MOL000422	Kaempferol	41.88	0.24	人参
MOL004492	Chrysanthemaxanthin	38.72	0.58	人参
MOL005308	Aposiopolamine	66.65	0.22	人参
MOL005314	Celabenzine	101.88	0.49	人参
MOL005317	Deoxyharringtonine	39.27	0.81	人参
MOL005318	Dianthramine	40.45	0.2	人参
MOL005320	Arachidonate	45.57	0.2	人参
MOL005321	Frutinone A	65.9	0.34	人参
MOL005344	Ginsenoside rh2	36.32	0.56	人参
MOL005348	Ginsenoside-Rh ₄ _qt	31.11	0.78	人参
MOL005356	Girinimbin	61.22	0.31	人参
MOL001559	Piperlonguminine	30.71	0.18	山药
MOL001736	(-)-Taxifolin	60.51	0.27	山药
MOL000310	Denudatin B	61.47	0.38	山药
MOL000322	Kadsurenone	54.72	0.38	山药
MOL005429	Hancinol	64.01	0.37	山药
MOL005430	Hancinone C	59.05	0.39	山药
MOL005435	24-Methylcholest-5-enyl-3 β -O-glucopyranoside_qt	37.58	0.72	山药
MOL005438	Campesterol	37.58	0.71	山药
MOL005440	Isofucosterol	43.78	0.76	山药
MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	山药
MOL005458	Dioscoreside C_qt	36.38	0.87	山药
MOL000546	Diosgenin	80.88	0.81	山药
MOL005461	Doradexanthin	38.16	0.54	山药
MOL005463	Methylcimicifugoside_qt	31.69	0.24	山药
MOL005465	AIDS180907	45.33	0.77	山药
MOL000953	CLR	37.87	0.68	山药
MOL001484	Inermine	75.18	0.54	甘草
MOL001792	DFV	32.76	0.18	甘草
MOL000211	Mairin	55.38	0.78	甘草
MOL002311	Glycyrol	90.78	0.67	甘草
MOL000239	Jaranol	50.83	0.29	甘草
MOL002565	Medicarpin	49.22	0.34	甘草
MOL000354	Isorhamnetin	49.6	0.31	甘草
MOL000359	Sitosterol	36.91	0.75	甘草
MOL003656	Lupiwighteone	51.64	0.37	甘草
MOL003896	7-Methoxy-2-methyl isoflavone	42.56	0.2	甘草
MOL000392	Formononetin	69.67	0.21	甘草

续表1(Continued Tab. 1)

序列编号 ID	成分 Ingredient	口服生物 利用度 OB	类药性 DL	药物 Herbal medicine
MOL000417	Calycosin	47.75	0.24	甘草
MOL000422	Kaempferol	41.88	0.24	甘草
MOL004328	Naringenin	59.29	0.21	甘草
MOL004805	(2S)-2-[4-Hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyran[2,3-f]chromen-4-one	31.79	0.72	甘草
MOL004806	Euchrenone	30.29	0.57	甘草
MOL004808	Glyasperin B	65.22	0.44	甘草
MOL004810	Glyasperin F	75.84	0.54	甘草
MOL004811	Glyasperin C	45.56	0.4	甘草
MOL004814	Isotrifoliol	31.94	0.42	甘草
MOL004815	(E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl) prop-2-en-1-one	39.62	0.35	甘草
MOL004820	Kanzonol W	50.48	0.52	甘草
MOL004824	(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
MOL004827	Semilicoisoflavone B	48.78	0.55	甘草
MOL004828	Glepidotin A	44.72	0.35	甘草
MOL004829	Glepidotin B	64.46	0.34	甘草
MOL004833	Phaseolinisoflavan	32.01	0.45	甘草
MOL004835	Glypallichalcone	61.6	0.19	甘草
MOL004838	8-(6-Hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	58.44	0.38	甘草
MOL004841	Licochalcone B	76.76	0.19	甘草
MOL004848	Licochalcone G	49.25	0.32	甘草
MOL004849	3-(2,4-Dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	59.62	0.43	甘草
MOL004855	Licoricone	63.58	0.47	甘草
MOL004856	Gancaonin A	51.08	0.4	甘草
MOL004857	Gancaonin B	48.79	0.45	甘草
MOL004860	Licorice glycoside E	32.89	0.27	甘草
MOL004863	3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	66.37	0.41	甘草
MOL004864	5,7-Dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	30.49	0.41	甘草
MOL004866	2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone	44.15	0.41	甘草
MOL004879	Glycyrin	52.61	0.47	甘草
MOL004882	Licocoumarone	33.21	0.36	甘草
MOL004883	Licoisoflavone	41.61	0.42	甘草
MOL004884	Licoisoflavone B	38.93	0.55	甘草
MOL004885	Licoisoflavanone	52.47	0.54	甘草
MOL004891	Shinpterocarpin	80.3	0.73	甘草
MOL004898	(E)-3-[3,4-Dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl) prop-2-en-1-one	46.27	0.31	甘草
MOL004903	Liquiritin	65.69	0.74	甘草
MOL004904	Licopyranocoumarin	80.36	0.65	甘草
MOL004905	3,22-Dihydroxy-11-oxo-delta(12)-oleanene-27-alpha-methoxycarbonyl-29-oic acid	34.32	0.55	甘草
MOL004907	Glyzagalbin	61.07	0.35	甘草

续表1(Continued Tab. 1)

序列编号 ID	成分 Ingredient	口服生物 利用度 OB	类药性 DL	药物 Herbal medicine
MOL004908	Glabridin	53.25	0.47	甘草
MOL004910	Glabranin	52.9	0.31	甘草
MOL004911	Glabrene	46.27	0.44	甘草
MOL004912	Glabrone	52.51	0.5	甘草
MOL004913	1,3-Dihydroxy-9-methoxy-6-benzofuran[3,2-c]chromenone	48.14	0.43	甘草
MOL004914	1,3-Dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofuran[3,2-c]chromenone	62.9	0.53	甘草
MOL004915	Eurycarpin A	43.28	0.37	甘草
MOL004917	Glycyroside	37.25	0.79	甘草
MOL004924	(-) -Medicocarpin	40.99	0.95	甘草
MOL004935	Sigmoidin-B	34.88	0.41	甘草
MOL004941	(2R)-7-Hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one	71.12	0.18	甘草
MOL004945	(2S)-7-Hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chroman-4-one	36.57	0.32	甘草
MOL004948	Isoglycyrol	44.7	0.84	甘草
MOL004949	Isolicoflavonol	45.17	0.42	甘草
MOL004957	HMO	38.37	0.21	甘草
MOL004959	1-Methoxyphaseollidin	69.98	0.64	甘草
MOL004961	Quercetin der.	46.45	0.33	甘草
MOL004966	3'-Hydroxy-4'-O-Methylglabridin	43.71	0.57	甘草
MOL004977	Licochalcone A	40.79	0.29	甘草
MOL004974	3'-Methoxyglabridin	46.16	0.57	甘草
MOL004978	2-[(3R)-8,8-Dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyran[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	36.21	0.52	甘草
MOL004980	Inflacoumarin A	39.71	0.33	甘草
MOL004985	Icos-5-enoic acid	30.7	0.2	甘草
MOL004988	Kanzonol F	32.47	0.89	甘草
MOL004989	6-Prenylated eriodictyol	39.22	0.41	甘草
MOL004990	7,2',4'-Trihydroxy-5-methoxy-3-arylcoumarin	83.71	0.27	甘草
MOL004991	7-Acetoxy-2-methylisoflavone	38.92	0.26	甘草
MOL004993	8-Prenylated eriodictyol	53.79	0.4	甘草
MOL004996	Gadelaidic acid	30.7	0.2	甘草
MOL005000	Vestitol	74.66	0.21	甘草
MOL005000	Gancaonin G	60.44	0.39	甘草
MOL005001	Gancaonin H	50.1	0.78	甘草
MOL005003	Licoagrocarpin	58.81	0.58	甘草
MOL005007	Glyasperins M	72.67	0.59	甘草
MOL005008	Glycyrrhiza flavonol A	41.28	0.6	甘草
MOL005012	Licoagroisoflavone	57.28	0.49	甘草
MOL005013	18 α -Hydroxyglycyrrhetic acid	41.16	0.71	甘草
MOL005016	Odoratin	49.95	0.3	甘草
MOL005017	Phaseol	78.77	0.58	甘草

续表1(Continued Tab. 1)

序列编号 ID	成分 Ingredient	口服生物利用度 OB	类药性 DL	药物 Herbal medicine
MOL005018	Xambioona	54.85	0.87	甘草
MOL005020	Dehydroglyasperin C	53.82	0.37	甘草
MOL000098	Quercetin	46.43	0.28	甘草
MOL007514	Methyl icosa-11,14-dienoate	39.67	0.23	砂仁
MOL003975	Icosa-11,14,17-trienoic acid methyl ester	44.81	0.23	砂仁
MOL007180	Vitamin-E	32.29	0.7	砂仁
MOL001771	Poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75	砂仁
MOL000358	Beta-sitosterol	36.91	0.75	砂仁
MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	砂仁
MOL001755	24-Ethylcholest-4-en-3-one (5S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(1R,4R)-4-Ethyl-1,5-dimethylhexyl]- 10,13-dimethyl-2,4,5,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro- 1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3,6-dione	36.08	0.76	砂仁
MOL007535	Sitosteryl acetate	33.12	0.79	砂仁
MOL001973	Stigmasta-5,22-dien-3-beta-yl acetate	40.39	0.85	砂仁
MOL007536	Sitosterol alpha1	46.44	0.86	砂仁
MOL001323	Mandenol	43.28	0.78	薏苡仁
MOL001494	(6Z,10E,14E,18E)-2,6,10,15,19,23-Hexamethyltetraconta-2,6,10,14,18,22-hexaene	42	0.19	薏苡仁
MOL002372	[(2R)-2,3-Dihydroxypropyl] (Z) -octadec-9-enoate	33.55	0.42	薏苡仁
MOL002882	Sitosterol	34.13	0.3	薏苡仁
MOL000359	Stigmasterol	36.91	0.75	薏苡仁
MOL000449	Coixenolide	43.83	0.76	薏苡仁
MOL008118	2-Monoolein	32.4	0.43	薏苡仁
MOL008121	CLR	34.23	0.29	薏苡仁
MOL000953		37.87	0.68	薏苡仁

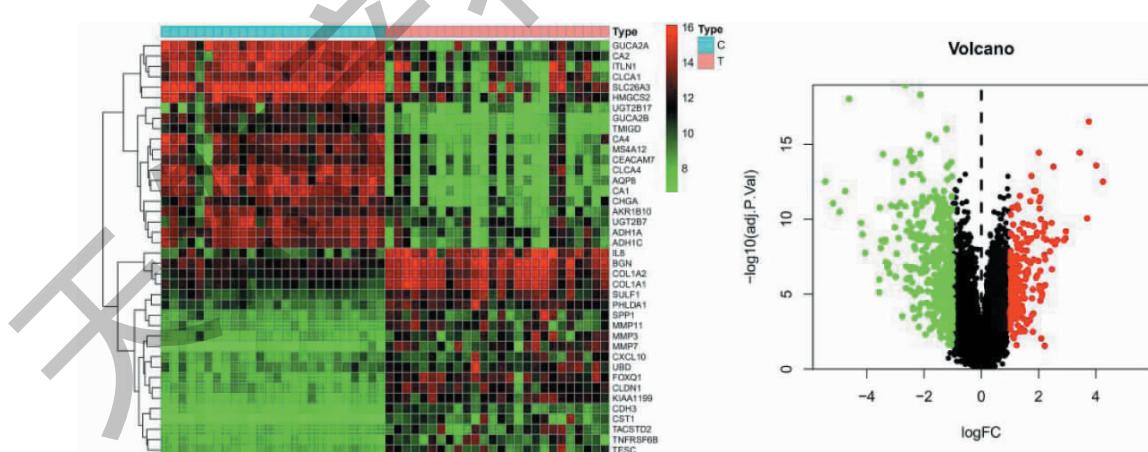


图1 差异基因表达热图(左)、火山图(右)

Fig. 1 Differential gene expression heat map (left) and volcano map (right)

注:在热图中,横坐标表示分组,纵坐标表示差异基因,其中对照组在前,模型组在后;火山图中,横坐标代表基因表达的倍数变化,纵坐标代表基因表达变化的统计显著性。红色代表上调基因,绿色代表下调基因。Note: In the heat map, the abscissa represents the grouping, and the ordinate represents the differential gene, where the control group is in the front and the model group is in the back; in the volcano chart, the abscissa represents the fold change of gene expression, and the ordinate represents the statistically significant change in gene expression. Red represents up-regulated genes, and green represents down-regulated genes.

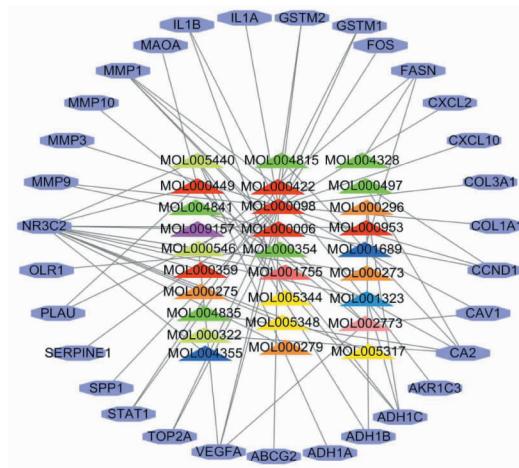


图 2 SLBZP-CRC 差异基因网络图

Fig. 2 SLBZP-CRC differential gene network diagram

注:外圈紫色代表差异基因,浅绿色:山药;深绿色:甘草;红色:多味草药共同成分;黄色:茯苓;玫红色:莲子;深蓝色:桔梗;浅红色:砂仁;淡蓝色:薏苡仁;金黄色:人参;淡红色:白扁豆。Note: The outer ring purple represents the differential gene; Light green: Dioscoreae Rhizoma; Dark green: Glycyrrhizae Radix et Rhizoma; Red: Common ingredients of various herbs; Yellow: Poria; Rose red: Nelumbinis Semen; Dark blue: Platycodonis Radix; Light red: Amomi Fructus; Light blue: Coicis Semen; Golden yellow: Ginseng Radix et Rhizoma; Light red: Lablab Semen Album.

2.2 化合物-靶点网络分析

将筛选出的化合物与差异基因互相映射,在 SLBZP 所有活性成分中,有 28 个化合物可调控与 CRC 相关靶点。故构建 SLBZP 化合物-CRC 差异基因靶点网络,如图 2 所示,该网络包含 59 个点(SLBZP 中的 28 个化合物和 31 个差异基因)和 70 条边,表明 SLBZP 可通过多成分、多靶点治疗 CRC。其中槲皮素(21 个靶点)、山奈酚(5 个靶点)、 β -胡萝卜素(5 个靶点)、豆甾醇(4 个靶点)、异黄酮(4

个靶点)、薯蓣皂苷元(3 个靶点)作用于多个靶点,因为它们在网络中占有重要位置,可能是 SLBZP 的关键活性化合物。

2.3 PPI 网络分析

蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)调控着大规模的生物过程,PPI 所获得的网络在大多数生物学功能和过程中非常重要,且大多数蛋白质的功能需要通过相互作用来激活^[9]。因此,如图 3 所示,使用 PPI 数据可视化 SLBZP 预测目标和 CRC 相关目标的

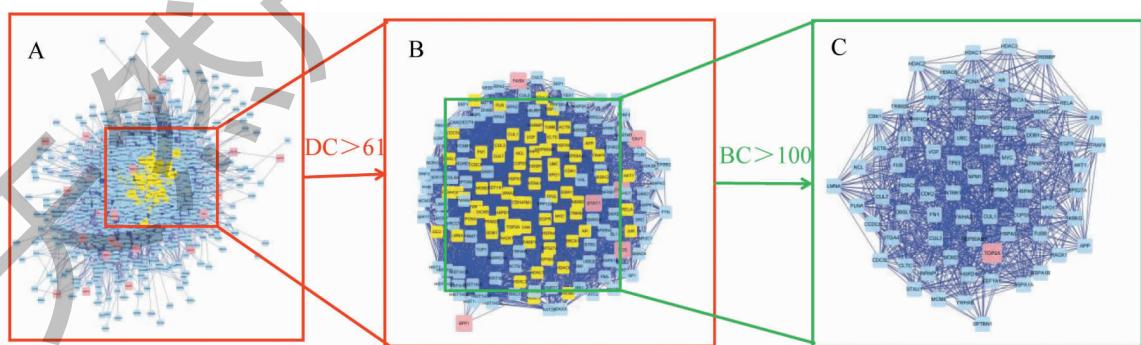


图 3 SLBZP-CRC 差异基因网络图

Fig. 3 SLBZP-CRC differential gene network diagram

注:确定 SLBZP 调控 CRC 的候选目标,A. SLBZP 预测靶点与 CRC 相关靶点蛋白相互作用网络;B. 根据 DC 大于 61,从图 A 中提取的重要蛋白的 PPI 网络;C. 根据 BC 大于 100,从图 B 中提取的 SLBZP 用于治疗 CRC 的候选靶点 PPI 网络。Note: To determine the candidate targets of SLBZP regulating CRC, A. SLBZP predicts the interaction network between target and CRC-related target protein; B. According to the DC greater than 61, the PPI network of important proteins extracted from Fig. A; C. According to the BC is greater than 100, the SLBZP extracted from Figure B is used to treat the CRC candidate target PPI network.

PPI 网络。PPI 网络中,包含 1 130 个节点及 565 个边,其中,每个节点代表着不同的蛋白,565 条边代表 565 种相互作用关系。

2.4 确定 SLBZP 调控 CRC 的候选靶点

为了深入分析 SLBZP 调控 CRC 的作用机制,将 SLBZP-CRC 相关靶基因合并构建 PPI 网络。该网络由 1 130 个节点和 17 529 个边组成,根据 Li^[10]、Zhang 等^[11]研究,认为在所有蛋白的 degree 中,超过中位数两倍的为枢纽蛋白,故本研究通过各个蛋白 degree,取大于 DC、BC 中位数两倍的值作为核心蛋白的筛选标准,故 DC > 61, BC > 100。如图 3B 所示。根据 DC 大于 61, 构建了针对 SLBZP 调控 CRC 的重要目标网络,其中包含 166 个节点和 8 524 个边。根据 BC 大于 100, 进一步筛选候选目标,得到

69 个目标靶点,确定为 SLBZP 最终调控 CRC 的 69 个靶基因,如图 3C 所示。

2.5 GO、KEGG 富集分析

通过 DAVID 数据库对 31 个差异基因进行 GO 和 KEGG 信号通路富集分析,基于分子生物学功能 (molecular function, MF)、生物学过程 (biological process, BP)、细胞学组分 (cellular components, CC) 分析了候选靶点的生物学过程。如图 4A 所示,根据 FDR < 0.05, 筛选前面富集最显著的生物学过程,其中 BP 有 2 个,CC 有 2 个,MF 有 1 个,其中红色代表上调,蓝色代表下调。如图 4B 所示,5 种不同颜色代表不同的生物学过程,在这些生物学过程中,与之相关的基因有 18 个,红色代表上调基因,蓝色代表下调基因,其中颜色越深代表调节越显著。

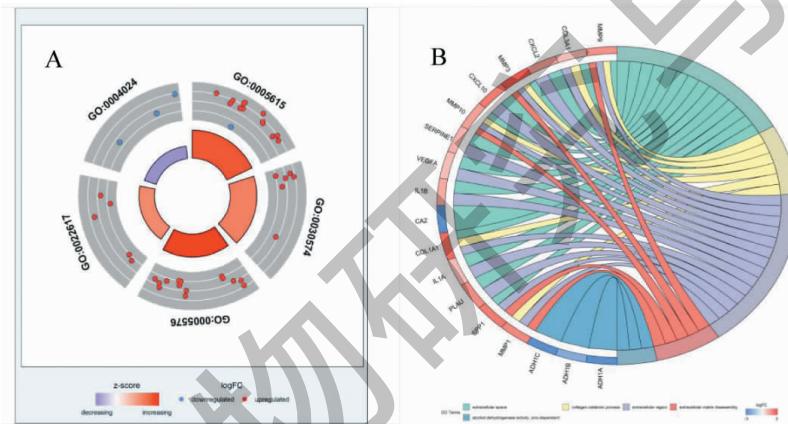


图 4 SLBZP 治疗 CRC 的候选目标的 GO 分析

Fig. 4 GO analysis of the candidate targets of SLBZP for the treatment of CRC

注:根据 FDR < 0.05 富集前面最显著的 5 个 GO 功能类别。图 A 中外圈弧形代表各个生物学功能,弧形中的各圆点代表基因,其中红色代表上调,蓝色代表下调;内圈中的弧形代表基因富集的显著性,弧形越高,富集越显著;Z-Score 越高,上调基因越多。图 B 中,右边部分根据颜色不同代表不同的生物学过程,左边部分根据颜色不同代表各个基因所参与的生物学过程,红色代表上调基因,蓝色代表下调基因。
Note: According to FDR < 0.05, the top 5 most significant GO functional categories are enriched. In Figure A, the outer circle arc represents each biological function, and the dots in the arc represent genes, where red represents up-regulation and blue represents down-regulation; the arc in the inner circle represents the significance of gene enrichment, the higher the arc, the more significant the enrichment; the higher the Z-Score, the more up-regulated genes. In Figure B, the right part represents different biological processes according to different colors, and the left part represents the biological processes involved in each gene according to different colors. Red represents up-regulated genes, and blue represents down-regulated genes.

通过 KEGG 途径分析得出了在治疗 CRC 过程中受 SLBZP 显著影响的信号途径如图 5 所示。根据 $P < 0.05$ 确定了 20 个显著富集的途径,包括化学致癌、药物代谢-细胞色素 P450、IL-17、沙门氏菌感染、肿瘤坏死因子等。

2.6 基因途径网络分析

基于显著富集的信号通路和调控这些通路的基因构建了基因-通路网络,如图 6 所示。利用 Cyto-

scape 3.5.1 软件,通过中间性(BC)对这 20 条通路和 23 个基因进行拓扑分析。图中正方形代表靶基因,V 形代表网络中的信号通路。网络图表明,FOS、IL-1B 具有最大的 BC,为核心基因,MMP9、VEGFA、ADH1C、STAT1、ADH1A、CCND1、CXCL2、CLAL1、IL-1A 等是 SLBZP 途径网络中治疗 CRC 的关键基因。它们可能是 SLBZP 治疗 CRC 的关键靶点。

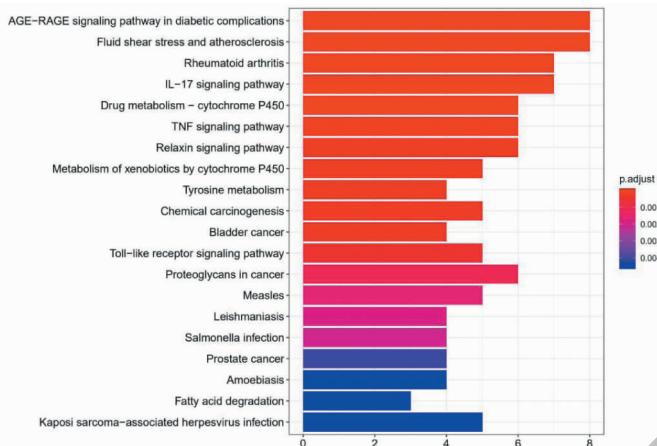


图 5 SLBZP 治疗 CRC 的 KEGG 信号通路

Fig. 5 KEGG signal pathway of SLBZP in the treatment of CRC

注:根据 $P < 0.05$ 富集前面最显著的 20 条通路,横坐标代表基因数目,纵坐标代表信号途径,颜色代表 P 值。Note: According to $P < 0.05$, the 20 most significant pathways in the front are enriched. The abscissa represents the number of genes, the ordinate represents the signal pathway, and the color represents the P value.

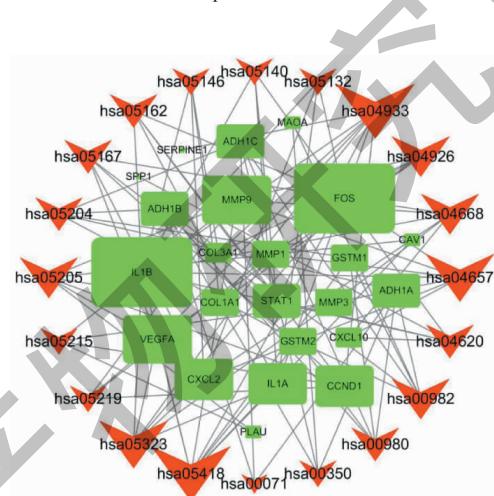


图 6 SLBZP 调控 CRC 的靶点-途径网络

Fig. 6 Target-pathway network of SLBZP in the regulation of CRC

注:对 20 条通路和 23 个基因进行拓扑分析,并以 BC 为中心。图中绿色方块代表靶基因,红色 V 形代表信号通路。图形尺寸大小代表中间性的大小。Note: Topological analysis was performed on 20 pathways and 23 genes, with BC as the center. The green square in the figure represents the target gene, and the red V-shape represents the signal pathway. The size of the figure represents the size of the intermediateness.

3 讨论

中医独特的理念经历了数千年的发展和传承,常用于各种疾病的预防和治疗。中药复方通常为多种草药根据君、臣、佐、使配伍运用,达到协同增效、药到病所、扶正祛邪的目的。CRC 属于中医“脏毒”“肠风”“肠覃”“锁肛痔”“癥瘕”“积聚”等范畴,多因正虚邪实,寒、痰、湿、毒、瘀等凝结成痈,下聚于大肠而发病。治疗常以扶正祛邪、健脾益气、清热利湿为主,实现毒瘀积聚消散,机体正气充沛,改善疾病症状,提高生活质量的目的。SLBZP 作为健脾渗湿、

扶正固本的经典方剂,临床常用于溃疡性结肠炎(UC)的治疗,并可联合放化疗显著增强 CRC 患者的免疫功能,减轻肠道炎性反应,优化肠道菌群结构等。中医治病讲究整体观念,着眼于机体整体功能的恢复和病因的消除。网络药理学的概念一经提出,便快速的与中药复方相结合进行研究,可较为全面的阐明中医药治疗疾病的的整体观念,分析中药复方复杂的作用机制。因此,在多种数据库平台的支持下,利用生物信息学手段分析中药复方复杂的药用成分及作用机制,使药物的具体功效显得清晰明

了。

在本研究中,根据 OB、DL 筛选出了 SLBZP 的 190 种化合物及 255 个靶基因,并通过与 CRC 患者和健康个体之间的 611 个差异表达基因进行合并取交集。根据 $FDR < 0.05$ 、 $\log FC > 1$, 最终确定 SLBZP 与 CRC 相关基因 31 个。构建了 SLBZP 化合物-CRC 靶点网络。结果表明,SLBZP 的大多数化合物可调控多个靶点,如槲皮素、山奈酚、豆甾醇分别作用于 21 个、5 个、4 个靶点,它们在网络中占有重要位置,所以,很可能是 SLBZP 的关键活性化合物。虽然各个单味药的预测靶点数量不同,但作用靶点有诸多重复。不难得出 SLBZP 的多种活性成分具有协同增效调控靶点的作用。槲皮素作为目前研究最为分布广泛的类黄酮之一,其强大的抗氧化应激及抗炎活性已得到充分证明,并被认为在治疗和预防糖尿病、癌症、神经退行性疾病和心血管疾病等方面发挥重要作用。就对肿瘤的作用而言,槲皮素可调节多种生物途径,诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤血管新生、防止肿瘤细胞的增殖。研究表明^[12],槲皮素作为 β -catenin 有效的抑制剂,可在 CRC SW480 细胞中诱导 Wnt/ β -catenin 的下调,防止 CRC 的发展进程。Hu 等^[13]通过制备槲皮素纳米颗粒制剂(35 nm)研究其对膀胱癌肿瘤微环境的影响发现,槲皮素颗粒制剂能增加药物对肿瘤屏障的渗透性,显著降低肿瘤中的活性成纤维细胞生长及胶原量,使肿瘤组织中的胶原蛋白含量正常化达到抗肿瘤的目的。山奈酚是存在于不同植物物种中的天然黄酮醇,大量的体外实验证明了山奈酚具有显著的抗炎作用,并通过阻滞肿瘤细胞周期、防止肿瘤血管新生、促进肿瘤细胞凋亡、防止肿瘤细胞迁移等方式抑制肿瘤的发展^[14]。但是,因药物在体内的利用度通常受到转运蛋白通透性、亲脂性、肠系膜结构、肠上皮细胞输送等因素的影响,使山奈酚具有较低的口服利用度,故限制了其作为抗癌剂的使用,但是据报道发现山奈酚与槲皮素联合使用可通过阻断槲皮素的外排,显著增强槲皮素的抗癌作用,与顺铂联合使用可显著增加其对细胞的毒性作用^[15]。豆甾醇作为抗癌候选药,也显示出显著的抗癌作用。其可通过破坏 TNF- α -VEGFR-2 轴抑制肿瘤内皮细胞的增殖、迁移和毛细血管网络的形成,有效的下调炎性细胞因子的产生,巨噬细胞募集和肿瘤血管生成,实现抑制肿瘤生长的目的^[16]。中药成分复杂,尽管网络药理学能较全面的分析中药的化学成分及作用机制,但各方中的总有效成分及相互作用后的协同效

应仍不能解决。而药物治疗疾病均是多成分共同作用的结果。在本次研究中,槲皮素、山奈酚、豆甾醇调节了 CRC 的大部分相关靶点,且均具有抗炎、抗肿瘤的特性,因此可将他们视为 SLBZP 的具有代表性的化合物。

将 SLBZP 预测靶点和 CRC 相关靶点进行合并,通过 PPI 网络进行结构化,为了更准确的分析 SLBZP 与 CRC 共同靶点与相关蛋白的相互作用关系,设置了包括 DC、BC 在内的 2 个参数来筛选节点并构建新的网络。通过 PPI 网络分析发现,SLBZP 治疗 CRC 相关靶点与其他蛋白交互作用强,其对 CRC 的治疗可能与其他蛋白的相互作用协同发挥调控作用。

通过 GO 富集分析 SLBZP 针对 CRC 靶点在 BP、CC、MF 中的富集情况。结果表明 SLBZP 调节了某些生物学过程,例如细胞外基质分解、胶原分解代谢过程、酒精脱氢酶活性等有关。上皮到间质转化(EMT)在胚胎发生和癌变中均起关键作用。就肿瘤而言,EMT 与癌细胞的侵袭、转移、耐药性、预后差等有关。EMT 通常是由 TGF- β 等细胞因子诱导的,通常 TGF- β 通过激活几种信号传导途径,下调 E-cadherin 的表达和磷酸化 β -catenin 蛋白,降低 E-cadherin- β -catenin(E β)复合物的浓度,破坏细胞间的黏附^[17]。细胞外基质(ECM)在癌症发展过程中会经历组成和结构的急剧变化,肿瘤细胞外基质富含胶原 I 和纤连蛋白等,并通过 LOX 介导的胶原交联从随机网络重组为对齐的网络,以此增加 ECM 的密度,促进肿瘤细胞的存活和繁殖,增加肿瘤细胞的运动性,促进肿瘤细胞的侵袭,还常常导致肿瘤对放射疗法的抵抗,这种细胞外基质的重塑可直接影响癌症的进程^[16]。而胶原蛋白和纤连蛋白在内的纤维状 ECM 蛋白的沉积和交联增加,EMT 导致的细胞间黏附减少,使细胞基质和细胞间粘附不平衡也是癌症进展的基础。全球范围内约有 3.6% 的癌症是由饮酒导致的,酒精可与包括 CRC 在内的消化道恶性肿瘤建立密切的联系,因此国际癌症研究机构(IARC)将酒归为人类致癌物的第一类^[18]。酒精致癌机理为:干扰 DNA 的合成和修复;促进细胞内基因突变;改变代谢途径;大量消耗视黄酸使组织分化低、变性高,进入恶变前状态等。在 CRC 患者中,血清中乙醇脱氢酶(ADH)的活性较健康粘膜显著增高,醛脱氢酶(ALDH)活性却显著降低,两者活性出现异常失衡的情况,导致大量毒性乙醛的产生^[19]。而 SLBZP 可以通过干预这些生理、病理过

程预防肿瘤的发生、发展。

中药以多成分、多靶点、多途径的优势治疗疾病。复方 SLBZP 也具有相同的特性,以多成分、多靶点、多途径的方法治疗 CRC。在本研究中,包括化学致癌、沙门氏杆菌感染等信号通路在内的 20 条 KEGG 信号通路得到了显著的富集。由于饮食习惯及职业危害等,化学致癌所导致的 CRC 发病一直在增加。在高温($>130^{\circ}\text{C}$)烹饪或经空气污染过的食物,通常会产生多环芳烃(PAH)、杂环胺(HCA)、N-亚硝基化合物(NOC)、霉菌毒素(黄曲霉毒素)和丙烯酰胺等致癌物,作为 CRC 潜在的危险因素急需被人们认识^[20]。大多数流行病学研究观察均得出 HCA 摄入与 CRC 呈正相关,其诱变 CRC 相关风险指数增加了 30%。硝酸盐作为添加在食品制品中的有效的防腐剂不仅可阻止肉毒杆菌的生长,还能增强加工肉的颜色和风味。但越来越多的证据表明其可导致内源性 NOC 形成,发挥强烈的致癌作用。NOC 其主要致癌机制为增加肠道异常隐窝灶(ACF)及粘液耗竭灶(MDF)的产生,使肠道上皮细胞 DNA 突变,促进 CRC 大发生。随着高通量测序的发展,肠道菌群与 CRC 的关系正在被揭示。大量研究认为,肠道菌群结构的紊乱,病原可通过引发肠道慢性炎症反应改变细胞生物学,成为 CRC 发展的重要诱因。每年大约有 9 000 多万人感染沙门氏菌,并有超过 2 500 种不同血清型的肠沙门氏菌亚种存在于肠道中^[21]。沙门氏菌影响着与肿瘤相关的多种信号途径,其通过在细胞中分泌的效应蛋白激活 AKT 和 ERK 途径,而这些途径在许多癌症中通常也被激活。在 Wnt 信号通路中,沙门氏菌效应无毒蛋白 A(AvrA)可通过 T3SS 转移到宿主细胞中,在 AvrA 的去泛素化酶活性作用下防止 β -catenin 降解,促进 β -catenin 在细胞核内大量募集,通过与 TCF/LEF 相结合,下调原癌基因 MYC、CCND1 的表达,同时,AvrA 可通过激活 AKT,使丝氨酸上的 β -catenin 磷酸化以进一步促进核 β -catenin 信号传导^[22]。综上所述,化学致癌、肠道炎症、病原菌数量增加等因素,均是 CRC 发展的重要因素。SLBZP 作为健脾益气的经典方,可以促进有效增加机体抗炎因子表达,增强免疫反应,调节肠道菌群,保护肠上皮细胞免受损伤,防止 CRC 的发展。在本研究中,上述途径作为显著富集并与 CRC 密切相关的信号通路,表明与 CRC 发生有关的途径的调控可能是 SLBZP 治疗 CRC 的机制之一。此外,SLBZP 可能通过调节其他途径起作用,包括 TNF 途径,Toll 样受体

途径、IL-17 途径等。

本研究还构建了基因通路网络以研究 SLBZP 针对 CRC 的关键靶基因。结果表明 FOS、IL-1B 具有最大 BC,它可能是核心靶点。其他前 9 个基因(MMP9、VEGFA、ADH1C、STAT1、ADH1A、CCND1、CXCL2、CLAL1、IL-1A)被选为关键靶基因。FOS 作为 CRC 转移的关键驱动因素,位于人类 14q21-31 染色体上,编码核蛋白 c-Fos。单独的 c-Fos 蛋白没有生理功能,必须与 c-Jun 结合形成具有转录激活活性的异二聚体(AP-1),AP-1 与细胞的增殖、分化密切相关,c-Fos 和 c-Jun 的表达在正常组织中低,在许多恶性肿瘤和癌变过程中高。Chen 等^[23]为了明确在 FOS 影响下机体 CRC 的易感性,分析了 c-Fos 蛋白在 16 例 CRC 患者癌组织及癌旁正常组织中的表达发现,CRC 组织中 c-Fos 蛋白的表达水平显著增加,存活率显著降低。炎症作为癌变的各阶段的影响因素,越来越引起重视。有不少研究表明,经常服用非甾体类抗炎药可显著降低患 CRC 的风险。这也间接证明了炎症反应促进了 CRC 的发生。IL-1B(IL-1 β)作为促炎的“警报”因子,在炎症及癌症早期便被激活,CRC 患者中 IL-1 β 表达水平出现显著升高,并与疾病的严重程度、预后有关。与大部分其他肿瘤疾病,CRC 是血管高度生成的肿瘤,血管的高效率生成是提高 CRC 细胞存活、增殖、转移的重要因素。而 IL-1 β /IL-6 途径可通过刺激潜在促血管生成因子 COX-2 的表达,促进血管的新生,刺激肿瘤细胞的生长,且三者的表达有显著的相关性,COX-2 的过度表达受 IL-1 β 、IL-6 显著升高调控^[24,25]。

本研究使用网络药理学方法探讨了 SLBZP 对 CRC 的作用机理和分子靶点。槲皮素(21 个靶点)、山奈酚(5 个靶点)、 β -胡萝卜素(5 个靶点)、豆甾醇(4 个靶点)、异黄酮(4 个靶点)、薯蓣皂苷元(3 个靶点)作用于多个靶点,因为它们在网络中占有重要位置,可能是 SLBZP 的关键活性化合物。因此,SLBZP 可能通过以上关键化合物起作用,进一步影响特定的生物学过程,调节肿瘤细胞的增殖、迁移,并在抑制炎性反应,防止化学致癌,优化肠道菌群结构等途径中发挥治疗作用。FOS、IL-1B、MMP9、VEGFA、ADH1C、STAT1、ADH1A、CCND1、CXCL2、CLAL1、IL-1A 是 SLBZP 治疗 CRC 的关键基因,也进一步验证了中药复方可多成分、多靶点、多途径治疗复杂疾病的优势。

参考文献

- 1 Li XL, Zhou J, Chen ZR, et al. P53 mutations in colorectal cancer-molecular pathogenesis and pharmacological reactivation [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(1):84-93.
- 2 Ravindranathan P, Pasham D, Goel A. Oligomeric proanthocyanidins (OPCs) from grape seed extract suppress the activity of ABC transporters in overcoming chemoresistance in colorectal cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2019, 40: 412-421.
- 3 Nagao-Kitamoto H, Kitamoto S, Kuffa P, et al. Pathogenic role of the gut microbiota in gastrointestinal diseases [J]. *Intest Res*, 2016, 14:127-138.
- 4 Zhang JJ, Zhang YQ. Effect of Shenling baizhu Powder on attenuating and enhancing immunity of postoperative mFOLFOX6 chemotherapy in patients with colorectal cancer [J]. *Hubei J Tradit Chin Med(湖北中医杂志)*, 2020, 42(6):9-11.
- 5 Dai G, Sun B, Gong T, et al. Ginsenoside Rb₂ inhibits epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer cells by suppressing TGF- β /Smad signaling [J]. *Phytomedicine*, 2019, 56:126-135.
- 6 Vayghan HJ, Ghadimi SS, Nourazarian AR. Preventive and therapeutic roles of ginseng-focus on colon cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15:585-588.
- 7 Wang HY, Liu G. The effect of Shenlingbaizhu powder combined with chemotherapy on the immune function and quality of life of colorectal cancer [J]. *China Mod Med(中国当代医药)*, 2020, 27(9):78-80.
- 8 Lin X, Xu W, Shao M, et al. Shenling Baizhu San suppresses colitis associated colorectal cancer through inhibition of epithelial-mesenchymal transition and myeloid-derived suppressor infiltration [J]. *BMC Complement Altern M*, 2015, 15:126.
- 9 Guo W, Huang J, Wang N, et al. Integrating network pharmacology and pharmacological evaluation for deciphering the action mechanism of herbal formula zuojin pill in suppressing hepatocellular carcinoma [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1185.
- 10 Li S, Zhang ZQ, Wu LJ, et al. Understanding ZHENG in traditional Chinese medicine in the context of neuro-endocrine-immune network [J]. *IET Syst Biol*, 2007, 1(1):51-60.
- 11 Zhang Y, Li Z, Yang M, et al. Identification of GRB2 and GAB1 coexpression as an unfavorable prognostic factor for hepatocellular carcinoma by a combination of expression profile and network analysis [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (12): e85170.
- 12 Murakami A, Ashida H, Terao J. Multitargeted cancer prevention by quercetin [J]. *Cancer Lett*, 2008, 269:315-325.
- 13 Hu K, Miao L, Goodwin TJ, et al. Quercetin remodels the tumor microenvironment to improve the permeation, penetration, and antitumor effects of nanoparticles [J]. *ACS Nano*, 2017, 11:4916-4925.
- 14 Rajendran P, Rengarajan T, Nandakumar N, et al. Kaempferol, a potential cytostatic and cure for inflammatory disorders [J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 86:103-112.
- 15 Wang JL, Skolnik S. Mitigating permeability-mediated risks in drug discovery [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2010, 6:171-187.
- 16 Kangsamaksin T, Chaithongyot S, Woothichairangsan C, et al. Lupeol and stigmastanol suppress tumor angiogenesis and inhibit cholangiocarcinoma growth in mice via downregulation of tumor necrosis factor- α [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (12): e0189628.
- 17 Devi KP, Malar DS, Nabavi SF, et al. Kaempferol and inflammation: from chemistry to medicine [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 99:1-10.
- 18 Polyak K, Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits [J]. *Nat Rev Cancer*. 2009, 9:265-273.
- 19 Colak S, Ten Dijke P. Targeting TGF- β Signaling in Cancer [J]. *Trends Cancer*, 2017, 3(1):56-71.
- 20 Becker A, Thakur BK, Weiss JM, et al. Extracellular vesicles in cancer: cell-to-cell mediators of metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30:836-848.
- 21 Orywal K, Szmikowski M. Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in malignant neoplasms [J]. *Clin Exp Med*, 2017, 17:131-139.
- 22 Crowe W, Elliott CT, Green BD. A review of the *in vivo* evidence investigating the role of nitrite exposure from processed meat consumption in the development of colorectal cancer [J]. *Nutrients*, 2019, 11(11):2673.
- 23 Chen H, Ji L, Liu X, et al. Correlation between the rs7101 and rs1063169 polymorphisms in the FOS noncoding region and susceptibility to and prognosis of colorectal cancer [J]. *Medicine*, 2019, 98(26):e16131.
- 24 Cui G, Yuan A, Sun Z, et al. IL-1 β /IL-6 network in the tumor microenvironment of human colorectal cancer [J]. *Pathol Res Pract*, 2018, 214:986-992.
- 25 Burke SJ, Collier JJ. The gene encoding cyclooxygenase-2 is regulated by IL-1 β and prostaglandins in 832/13 rat insulinoma cells [J]. *Cell Immunol*, 2011, 271:379-384.