

基于网络药理学探究穿心莲抗肝癌的作用研究

李雨晴¹ 吕立舫^{2*}

1 昆明医科大学 2 天津市宝坻区人民医院

DOI:10.12238/bmtr.v6i5.10047

[摘要] 目的: 采用网络药理学方法探讨穿心莲抗肝癌的作用机制。方法: 结合TCMSP数据库, 确定穿心莲的活性成分和靶点; 利用GeneCards、TTD、DisGeNET等数据库, 对肝癌潜在的靶点进行预测, 从两者中筛选出共有的靶标。利用STRING数据库和Cytoscape等分析平台, 建立蛋白质互作网络。利用DAVID数据库, 对共有靶标进行GO、KEGG的富集。结果: 穿心莲中有24种有效成分和66个靶点, 肝癌中有2655个不同的靶点, 二者有51个交集靶点。蛋白相互作用网络拓扑分析显示, 穿心莲治疗肝细胞癌的机制与TP53、IL6、AKT1、TNF等靶点有关。KEGG富集通路有122个, 主要包括p53信号通路、PI3K/Akt信号通路、IL-17信号通路, 且与癌症信号通路、乙型肝炎信号通路、丙型肝炎信号通路、非酒精性脂肪性肝病信号通路等疾病信号通路高度相关。结论: 穿心莲是一种多成分, 多靶点, 多途径的抗癌药物, 为进一步探究穿心莲治疗肝癌的理论研究提供参考。

[关键词] 穿心莲; 肝癌; 网络药理学

中图分类号: R96 文献标识码: A

Based on network pharmacology the effect of andrographis on anti-liver cancer was studied

Yuqing Li¹ Lifang Lv^{2*}

1 Kunming Medical University 2 Tianjin Baodi District People's Hospital

[Abstract] Objective Network pharmacology was used to explore the mechanism of action of andrographis against liver cancer. Methods The active ingredients and potential targets of andrographis were obtained by TCMSP database, and the potential targets of liver cancer were searched by GeneCards, TTD and DisGeNET databases, and the common targets of the two were screened. Utilizing the STRING database facilitated the assembly of the protein interaction network, while the construction of the corresponding network was executed through the Cytoscape application. The DAVID database played a role in conducting GO and KEGG enrichment analyses for the overlapping targets. Results Andrographis contained 24 main active ingredients, 66 targets, 2655 differential targets between liver cancer samples and normal samples, and 51 intersections. Protein interaction network topology analysis showed that the mechanism of andrographis in the treatment of hepatocellular carcinoma was related to TP53, IL6, AKT1, TNF, PTGS2 and other targets. There were 122 KEGG-related enrichment pathways, including p53 signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, and IL-17 signaling pathway, and it was highly correlated with cancer signaling pathway, hepatitis B signaling pathway, hepatitis C signaling pathway, nonalcoholic fatty liver disease signaling pathway and other disease signaling pathways. Conclusion Andrographis is a multi-component, multi-target, and multi-pathway anti-cancer drug, which provides a reference for further theoretical research on andrographis in the treatment of liver cancer.

[Key words] Andrographis; Liver cancer; Network pharmacology

肝细胞癌是一种常见的消化道恶性肿瘤, 每年肝癌在癌症中的发病率大约在45.25%, 其发病死亡率大约在47.11%^[1]。近年来我国肝癌发病率与死亡率虽然呈不同程度下降趋势, 但其依然是威胁我国居民健康的重要公共卫生问题^[2]。尽管目前有免

疫治疗、靶向治疗等方法, 但其仅能改善总体生存率, 对预后和进展无逆转延缓作用^[3]。因此, 深入研究疾病发展的分子机制, 寻找治疗肝癌安全、低毒、高效的新型靶向药物是目前临床研究中非常迫切的任务。

穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees, 又称黄芩, 是一种常见的中药材, 在中医理论中, 穿心莲被认为具有苦、寒的性质, 主要归于心、肝、胆经, 主要药用部分是其根, 具有清热解毒、泻火除烦、凉血止血等功效^[4]。最近的研究发现, 穿心莲属植物还具有一定的免疫、抗肿瘤和中毒性肝脏保护的作用, 以及抗血小板聚集, 降低血压, 抗心肌缺血等作用^[5]。穿心莲内酯对人肝细胞癌有明显的抗肿瘤作用, 并可通过增强其机体的免疫力, 延长存活率, 提高生存品质; 诱发肝癌细胞凋亡而产生抑瘤作用^[6]。因此, 穿心莲在现代医学领域也被广泛研究和应用, 被认为具有广阔的发展前景和医疗应用潜力。在本研究中, 我们希望通过收集穿心莲的化学信息和肝癌相关基因的数据库信息, 利用网络药理学工具找出关键作用靶点, 分析穿心莲治疗肝癌的可能机制, 以期为其应用于肝癌治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

TCMSP数据库 (<https://www.tcmsp-e.com/tcmsp.php>), Uniprot数据库 (<https://www.uniprot.org/>), GeneCards数据库 (<https://www.genecards.org/>), Therapeutic Target Database数据库 (<https://db.idrblab.net/ttd/>), DisGeNET数据库 (<https://www.disgenet.org/>), Venny2.1.0在线作图平台 (<http://www.liuxiaoyuyuan.cn/>), STRING数据库 (<https://cn.string-db.org/>), Cytoscape软件 (版本3.7.2, <https://www.cytoscape.org/>), DAVID数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)。

1.2 方法

1.2.1 筛选穿心莲活性成分和潜在靶点

在TCMSP数据库中以“穿心莲”为关键词进行检索, 从中提取穿心莲的有效成份。以口服利用度 (OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (DL) ≥ 0.18 为评价标准进行筛选, 并对这些活性成分进行了靶点预测分析。通过Uniprot蛋白质数据库将预测的靶点转化为相对应的基因简称并去重。

1.2.2 肝癌相关靶点的获取

利用GeneCards数据库、TTD数据库和DisGeNET数据库以“liver cancer”为关键词筛选相关疾病靶点, 对三个数据库中的所有数据进行整合, 剔除出所有的重复靶标, 从而得出最终的疾病靶标。

1.2.3 穿心莲活性成分作用靶点与肝癌相关靶点的交集

利用Venny2.1.0软件, 将穿心莲活性成分靶点与肝细胞癌发病靶标进行交叉比对, 获取其可能的靶标, 绘制Venny线图。

1.2.4 蛋白相互作用 (PPI) 网络图构建及核心活性成分筛选

将“穿心莲-肝癌”相关交集靶点信息导入STRING数据库中, 设定物种为“Homo sapiens”, 生成PPI网络图, 将网络图文件导入Cytoscape软件使用Network Analyzer插件进行网络分析, 根据degree值进行排序, 筛选核心靶点并进行可视化分析。

1.2.5 功能富集分析

利用DAVID数据库, 通过GO和KEGG等方法, 获取相关的生物过程, 分子功能, 细胞成分, 及其参与的信号途径。以 $P < 0.05$ 、 $Q <$

0.05为限制条件, 对其进行GO富集, 并以条形图进行了研究。将核心靶点富集分析得到KEGG通路。

2 结果

2.1 穿心莲活性成分和潜在靶点

经检索数据和查阅有关资料, 我们获得了24种穿心莲组分。利用TCMSP平台预测有效成分对应靶点, 并经Uniprot数据库标准化注释并去重后得到对应靶点66个。

2.2 穿心莲活性成分作用靶点与肝癌相关靶点的Venny分析

通过GeneCards, TTD, DisGeNET数据库共筛选出2655条与肝细胞癌发病密切相关的靶标。与穿心莲的66活性成分靶点, 利用在线网站Venny2.1.0绘制韦恩图, 分析获得交集靶点51个, 推测其为穿心莲治疗肝癌的潜在靶点基因。见图1。

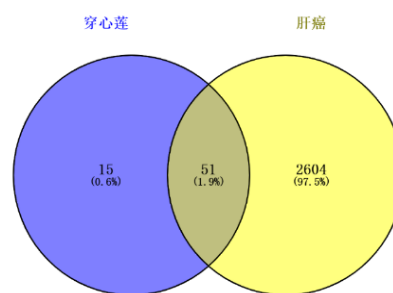


图1 穿心莲治疗肝癌的交集靶点Venny图

2.3 蛋白相互作用 (PPI) 网络图构建及核心活性成分筛选

将交集靶点导入STRING数据库中, 得到如图1所示的靶点蛋白PPI网络, 使用Cytoscape对网络图进行核心靶点的分析, 该网络共有51个节点, 537条边, 平均度值和聚类系数分别为21.1和0.719。根据degree排序对药物靶标进行聚类分析, 构建穿心莲与肝细胞癌相关的靶点网络图。色彩愈暗, degree值愈大, 则相关程度愈高。利用CytoNCA软件对每个节点的degree进行反复筛查, 以degree中值作为筛查标准, 获得6个靶标蛋白质, degree最高的4个为核心靶标, 分别为TP53、IL6、AKT1、TNF。见图2。

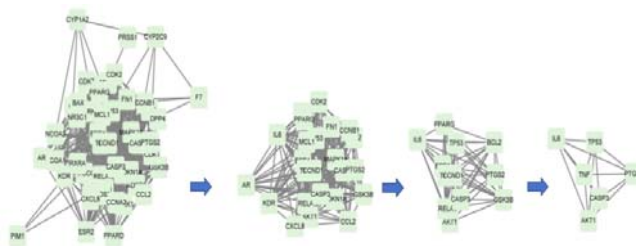


图2 穿心莲与肝癌中PPI网络交互图及作用靶点网络图

2.4 穿心莲治疗肝癌中差异表达基因GO注释

将51个交集靶点进行GO富集, 由P值排列的生物学过程 (BP), 细胞组成 (CC), 分子功能 (MF) 的前10项显示在柱状图中。其中, BP包括RNA转录调控、凋亡、对异源性刺激的反应等; CC包括胞核、胞浆、胞质、核质、质膜、线粒体、大分子复合体等; MF包括蛋白结合、酶结合、蛋白激酶活性、ATP结合等。见图3。

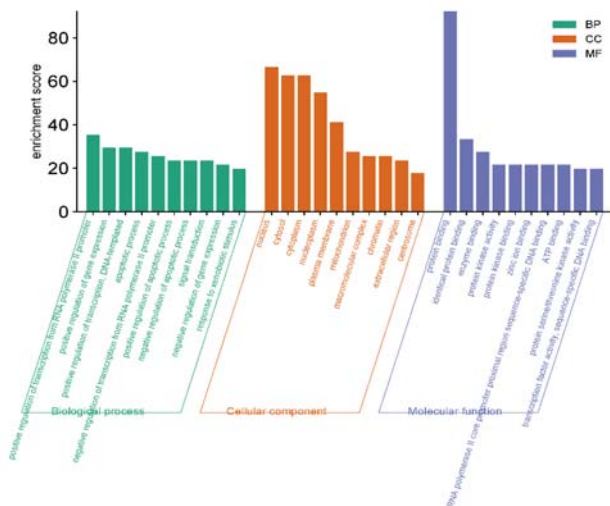


图3 GO注释穿心莲治疗肝癌中差异表达基因

2.5 穿心莲治疗肝癌中差异表达基因富集信号通路的KEGG注释

KEGG的分析结果显示,共有122条通路与本研究相关。按照p值由低至高的顺序排列得到的结果。通过对上述信号通路的研究发现,穿心莲治疗肝癌相关度较高的通路有癌症信号通路、p53信号通路、乙型肝炎信号通路、PI3K/Akt信号通路、丙型肝炎信号通路、IL-17信号通路、非酒精性脂肪性肝病信号通路等。将所有的基因富集量和p值结合起来,发现肿瘤相关通路明显地富集于此。

3 讨论

通过网络药物靶标预测发现,穿心莲的核心靶点是TP53。TP53通常被称为肿瘤蛋白,TP53位于染色体17q13,包含11个外显子和10个内含子,是维护基因组稳定的关键分子。TP53是一类重要的参与DNA损伤修复,细胞凋亡及细胞周期调节的蛋白^[7]。它被认为是人类肿瘤中最常见的突变基因之一,因为它的突变可以导致细胞失去对DNA损伤的应答能力,从而促进癌症的发展^[8]。因此,TP53被认为是肿瘤抑制基因的重要靶点之一。科学家们正在努力研究如何通过干预TP53通路来治疗癌症,比如开发针对TP53的药物或其他治疗方法,相关研究和药物开发仍在持续进行,有望为肝癌患者提供更有有效的治疗选择。通路富集分析结果表明,穿心莲可能通过多靶点、多通路发挥预防或治疗肝癌的作用。KEGG分析结果表明穿心莲主要通过p53信号通路、PI3K-Akt信号通路、IL-17信号通路等通路治疗肝癌。其中PI3K/Akt信号通路为肝癌较为重要的调控通路之一,其中AKT,是PI3K信号通路中发挥重要作用的靶蛋白,在信号通路中处于核心地位,进一步证实了PPI富集结果。PI3K/Akt信号通路是一个在肝癌研究中备受关注的重要领域。该信号通路参与调控细胞的生长、存活、代谢和增殖等关键生物学过程。在肝癌中,PI3K/Akt信号途径的异常激活与肝癌的进展密切相关。文献报道,PI3K/Akt信号通路

的激活能增强肝癌细胞的增殖、存活及侵袭能力,进而加速肝癌的发展^[9]。前期研究发现,在肝癌中这一信号传导途径可能通过调控微环境及其活性,进而促进疾病发生发展。因此,靶向PI3K/Akt的抗肿瘤药物成为研究热点。有研究显示,阻断PI3K/Akt可通过影响肝细胞癌的生长与浸润,延缓其进展^[10]。综上所述,穿心莲作为肝癌研究和治疗的重要领域,其相关研究和药物开发仍在持续进行,有望为肝癌患者提供更有有效的治疗选择。

[参考文献]

[1]ANWANWAN D,SINGH S K,SINGH S,SAIKAM V,SINGH R.Challenges in liver cancer and possible treatment approaches[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer,2020,1873(1):188314.
 [2]TANIGUCHI H.Liver Cancer 2.0[J].Int J Mol Sci,2023,24(24).
 [3]LIU C Y,CHEN K F,CHEN P J.Treatment of Liver Cancer [J]. Cold Spring Harb Perspect Med,2015,5(9):a021535.
 [4]DAI Y,CHEN S R,CHAI L,ZHAO J, WANG Y, WANG Y. Overview of pharmacological activities of Andrographis paniculata and its major compound andrographolide[J].Crit Rev Food Sci Nutr, 2019,59(sup1):S17-s29.
 [5]许英民.穿心莲的药理作用与临床应用[J].兽医导刊,2016,(05):57-58.
 [6]NAOMI R,BAHARI H,ONG Z Y,KEONG Y Y,EMBONG H, RAJANDRAM R, TEOH S H, OTHMAN F, HASHAM R, YIN K B, KANIAPPAN P, YAZID M D,ZAKARIA Z A.Mechanisms of Natural Extracts of Andrographis paniculata That Target Lipid-Dependent Cancer Pathways: A View from the Signaling Pathway[J].Int J Mol Sci,2022,23(11).
 [7]VOSKARIDES K, GIANNOPOULOU N. The Role of TP53 in Adaptation and Evolution[J].Cells,2023,12(3).
 [8]GUO A K, ITAHANA Y, SESHACHALAM V P, CHOW H Y, GHOSH S, ITAHANA K. Mutant TP53 interacts with BCAR1 to contribute to cancer cell invasion[J].Br J Cancer,2021,124(1):299-312.
 [9]XU F,NA L,LI Y,CHEN L.Roles of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathways in neurodegenerative diseases and tumours [J]. Cell Biosci,2020,10(1):54.
 [10]YU L,WEI J,LIU P.Attacking the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway for targeted therapeutic treatment in human cancer[J].Semin Cancer Biol,2022,85:69-94.

作者简介:

李雨晴(1998--),女,汉族,天津市宝坻区人,硕士研究生,研究方向:药理学。

通讯作者:

吕立舫(1972--),女,汉族,天津市宝坻区人,副主任药师,大学本科,研究方向:医院药学。