

基于网络药理学研究异黄酮染料木素抗 NSCLC 机理

宁德利 张哲文 赵子旭 任馨原 张淑萍
大庆师范学院

DOI:10.12238/bmtr.v7i4.15537

[摘要] 本研究采用了网络药理学的方法,对异黄酮染料木素抗NSCLC的潜在作用机制展开探究。通过运用多个网络药理学数据库以及相关工具,收集并筛选天然异黄酮抗NSCLC过程的相关靶点。该研究通过构建药物-靶点-疾病网络,获得异黄酮化合物与NSCLC的共同作用靶点35个,并经网络拓扑分析筛选出ESR1、AKT1、MAPK1等关键靶点。此外,对共同靶点进行了GO分类富集分析以及KEGG通路富集分析,发现大豆属异黄酮染料木素等有可能是借助PI3K-Akt、MAPK、HIF-1等多条信号通路,进而参与到抗NSCLC的进程当中。本研究为NSCLC的治疗提供了新的理论支撑以及潜在的药物靶点。

[关键词] 网络药理学; 染料木素; 非小细胞肺癌; 作用机制

中图分类号: R96 文献标识码: A

Study the mechanism of isoflavone genistein in anti-NSCLC based on the network pharmacology

Deli Ning Zhewen Zhang Zixu Zhao Xinyuan Ren Shuping Zhang
daqing normal university

[Abstract] In this study, the potential mechanism of Genistein against NSCLC was investigated by using the method of network pharmacology. By utilizing multiple network pharmacology databases and related tools, relevant targets involved in the anti-NSCLC effects of natural isoflavones were collected and screened. The study constructed a drug-target-disease network, identifying 35 common targets between isoflavone compounds and NSCLC. Through network topology analysis, key targets such as ESR1, AKT1, and MAPK1 were further selected. Additionally, Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis of the common targets revealed that isoflavones like Genistein from the soybean genus may participate in the anti-NSCLC process through multiple signaling pathways, including PI3K-Akt, MAPK, and HIF-1. This study preliminarily provides new theoretical support and potential drug targets for NSCLC treatment.

[Key words] network pharmacology; genistein; NSCLC; mechanism of action

肺癌(Lung Cancer)已然成为全球范围内发病率和死亡率双高的恶性肿瘤,严重威胁人类健康^[1]。其中,非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占肺癌病例的85%^[2]。尽管当下针对NSCLC已发展出手术切除、放疗、化疗、靶向治疗以及免疫治疗等多种治疗手段^[3],但由于耐药性的产生以及不良反应等棘手问题,患者的5年生存率依旧不尽人意。在靶向治疗中,诸多患者会在治疗过程中对药物产生耐药性,致使治疗效果大打折扣。

异黄酮化合物(Isoflavones)属于一类天然产物,自身带有多种生物活性,广泛存在于豆类、谷物以及蔬菜等植物之中^[4]。其中,染料木素作为大豆异黄酮的主要活性成分,具有显著的抗肿瘤活性。但是,它在抗NSCLC方面的作用机制到现在还没有完

全弄清楚。

网络药理学(Network Pharmacology)是一种新兴的研究方法,融合了系统生物学、药理学以及计算机技术。它借助构建药物-靶点-疾病网络,从整体层面研究药物与生物体内复杂分子网络间的相互作用,进而揭示药物的多靶点效应与作用机制。借助网络药理学,能够较为全面且系统地去剖析异黄酮化合物抗NSCLC的潜在靶点与信号通路,为深入理解其作用机制提供全新的视角与方法。

1 材料

材料选取大豆异黄酮(染料木素)。其化学结构为5,7-二羟基-3-(4-羟苯基)-4H-1-苯并吡喃-4-酮(C₁₅H₁₀O₅),分子中含异黄酮骨架及3个羟基取代基,具有潜在抗肿瘤活性。

2 实验方法

2.1 网络药理学数据库及工具选择

本研究采用以下数据库与工具开展分析: TCMSP数据库 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database), 用于预测化合物潜在作用靶点, 基于口服生物利用度 ($OB \geq 30\%$) 和类药性 ($DL \geq 0.18$) 筛选可靠靶点。Auto Dock Vina 1.2.3: 分子对接工具, 用于模拟化合物与靶点的结合模式, 设置网格盒子中心为靶点活性位点坐标, 搜索空间为 $20A \times 20A \times 20A$, 其他参数默认。GROMACS 2022: 结合MM-GBSA (Molecular Mechanics-Generalized Born Surface Area) 方法计算分子间结合自由能, 评估复合物稳定性。

2.2 异黄酮化合物作用靶点预测

以染料木素的化学结构 (SMILES格式) 作为输入, 通过TCMSP数据库的“成分-靶点”预测模块, 基于结构相似性匹配及药代动力学参数筛选潜在作用靶点。设定筛选阈值为: 口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 且类药性 (DL) ≥ 0.18 。满足这两个条件的靶点被认为更有可能在体内发挥生物学作用。

2.3 NSCLC疾病相关靶点收集

运用Gene Cards数据库强大的基因检索与疾病关联分析功能, 以“non-small cell lung cancer”作为精准检索关键词, 全面收集与NSCLC疾病紧密相关的靶点。为了能够进一步把关键靶点聚焦起来, 专门设定了相关性得分的阈值, 只保留相关性比较高的靶点, 以此保证所收集到的靶点与NSCLC疾病之间有着较强的关联, 同时也具备一定的研究价值。

Gene Cards数据库在搜索过程中, 整合了来自多个国际权威基因数据库、科研文献以及临床研究的数据。运用自然语言处理和数据融合方面的技术, 针对和“non-small cell lung cancer”有联系的基因信息展开提取以及分析的工作, 给每个靶点算出相关性方面的得分。就KRAS靶点而言, 由于它在大量NSCLC相关的研究当中屡屡被提及, 并且在细胞信号传导的通路里面, 对于NSCLC细胞的增殖、分化以及存活都起到极为关键的调控作用, 所以它获得了高达0.98的相关性得分, 这也就表明它和NSCLC这种疾病之间存在着十分紧密的关联。

2.4 构建药物-靶点-疾病网络

利用Cytoscape软件构建药物-靶点-疾病网络时, 首先将上述异黄酮化合物、靶点蛋白及NSCLC疾病信息导入软件, 通过设置节点类型和属性, 分别赋予化合物、靶点和疾病不同的形状与颜色, 以便直观区分。在边的设置上, 根据文献报道和实验数据, 明确各元素之间的相互作用关系, 如直接结合、激活或抑制等, 并赋予相应的权重和方向性。

最终构建的药物-靶点-疾病网络以可视化的形式清晰呈现了异黄酮化合物、靶点与NSCLC疾病之间复杂的相互作用关系。该网络不仅有助于深入理解异黄酮类化合物治疗NSCLC的潜在分子机制, 还为后续筛选具有更高治疗价值的异黄酮衍生物, 以及开发针对关键靶点的联合治疗策略提供了重要的理论依据和研究方向。

2.5 网络拓扑分析及关键靶点筛选

网络拓扑分析意在将药物、靶点以及疾病之间那种复杂的关系给揭示出来, 然后从中把关键靶点筛选出来, 从而为后续的相关研究提供关键线索。就异黄酮化合物抗NSCLC的研究为例, 我们所构建的网络当中涵盖了异黄酮化合物、与之相关的靶点以及NSCLC疾病这些节点。通过运用像Cytoscape这类的网络分析软件, 能够很清晰地把各个节点之间的连接关系展示出来。

2.6 GO分类与KEGG富集分析

GO功能富集分析用于探究关键靶点参与的生物学过程、分子功能和细胞组成。利用DAVID、Metascape等在线工具, 将筛选出的关键靶点输入, 工具会基于已知的基因注释信息。KEGG通路富集分析能揭示关键靶点参与的信号通路, 帮助我们了解药物作用的潜在分子机制。同样使用DAVID、Metascape等工具, 将关键靶点数据输入进行分析。

3 结果与分析

3.1 异黄酮化合物作用靶点与NSCLC疾病靶点的获取结果

关于异黄酮化合物作用靶点以及NSCLC疾病靶点的检索工作。依据异黄酮化合物的结构特征, 先从Pub Chem数据库去获取与之相关的各类信息, 接着在Swiss Target Prediction平台上对其潜在靶点展开预测操作, 再到Uniprot数据库里针对前面预测出的潜在靶点进行交叉验证工作并且予以补充完善, 把其中重复的项目去除掉之后, 便成功得到了120个潜在的药物靶点, 而这些靶点涉及信号传导、细胞增殖调控等诸多生物学功能方面。在Gene Cards和OMIM这两个数据库当中, 以“non-small cell lung cancer”作为关键词来实施检索行为, 之后按照与NSCLC疾病的关联程度、研究证据的可靠程度等相关标准对检索所得到的结果加以筛选, 最终成功获取到了200个NSCLC疾病靶点, 这些靶点在细胞周期调控、肿瘤血管生成等和NSCLC发病以及进展紧密相关的生物学通路之中是广泛存在着。

3.2 GO分类与KEGG富集分析结果

对核心靶点进行GO功能富集分析, 结果显示主要富集在生物过程、细胞组成和分子功能等多个类别。详细的富集结果在各个功能类别之下核心靶点的富集具体情形, 由此能够清晰明确靶点所参与的主要生物学功能究竟有哪些。就生物过程这一方面而言, 其明显地富集于细胞增殖的调控过程、激素反应等相关过程之中。

3.3 药物-靶点-疾病网络

将35个染料木素与NSCLC共同作用靶点导入STRING在线软件构建PPI网络, 再经Cytoscape软件可视化处理, 得到药物-靶点-疾病网络可视化图, 直观呈现各靶点间相互关系。

复杂网络所具有的协同性特征表现为着重呈现的是共同靶点相互交集的部分, 而网络可视化图则进一步拓展并呈现出这些靶点与其他相关分子之间的广泛关联情况。由此能够看出, 染料木素对于NSCLC所起到的作用并非仅仅依赖于单一的靶点, 而是借助多靶点以及多途径的协同作用才得以实现, 这也充分

彰显出网络药理学所具备的“多成分-多靶点-多通路”这样的作用特性。

3.4网络拓扑分析结果与关键靶点信息

通过Cytoscape3.3软件对药物-靶点-疾病网络进行拓扑分析,基于度值(Degree)和介数中心性(Betweenness Centrality)筛选核心靶点。结果显示,在35个染料木素与NSCLC共同作用靶点中,ESR1、AKT1、MAPK1等靶点的网络连接性和信息传递能力显著高于其他节点,提示染料木素抗NSCLC机制中可能发挥核心作用。

4 讨论

本研究通过网络药理学,系统解析了染料木素抗NSCLC的潜在作用机制。首先通过TCMSP、Swiss Target Prediction数据库检索异黄酮类化合物潜在靶点,共获得120个基因(以染料木素为代表,匹配度 $\geq 60\%$);同时通过GeneCards(score ≥ 5)、OMIM数据库筛选NSCLC相关靶点200个。经分析,确定35个化合物与疾病的共同靶点,进一步通过STRING数据库构建蛋白质互作(PPI)网络(置信度 ≥ 0.9),利用Cytoscape软件计算拓扑参数,筛选出度值 ≥ 10 的核心靶点12个,包括ESR1(度值=18)、AKT1(15)、MAPK1(13)、VEGFA(9)、MMP9(8)等,形成“染料木素-核心靶点-NSCLC”作用网络。

研究结果显示,染料木素通过作用于ESR1、AKT1、MAPK1等核心靶点,调控细胞增殖、激素反应等生物过程,并干预PI3K-Akt、MAPK等关键信号通路,为异黄酮的抗肿瘤机制提供了多层次的理论依据。

在作用靶点方面,染料木素与多个关键靶点相互作用。表皮生长因子受体(EGFR)作为细胞增殖调控的核心靶点,染料木素可通过竞争性结合EGFR的配体结合域,阻断EGFR-酪氨酸激酶的激活,进而抑制下游磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路,减少细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)的活性,使肿瘤细胞停滞于G1期,从而抑制细胞增殖。半胱天冬酶-3(Caspase-3)作为细胞凋亡执行蛋白,染料木素能够激活Caspase-3的前体形式,促使其剪切为具有活性的亚基,启动细胞内的凋亡级联反应,诱导肿瘤细胞发生凋亡。PI3K作为细胞内重要的信号转导分子,异黄酮可通过抑制PI3K的催化活性,降低Akt的磷酸化水平,减弱细胞的抗凋亡能力,同时抑制细胞的迁移和侵袭能力。

NSCLC所涉及的疾病相关靶点,在肿瘤从发生直至发展的整个过程当中,都起着极为关键的作用。KRAS属于一种小G蛋白,它一旦发生突变的情况,那么就会致使下游的MAPK以及PI3K这两条信号通路出现持续激活的状况,进而让细胞拥有了能够无限增殖的特性,同时还具备了逃避凋亡的能力,以及侵袭转移方面的能力,所以KRAS是NSCLC当中较为常见的驱动基因突变类型中的一种。基质金属蛋白酶-9(MMP-9)能够降解细胞外基质成分,

为肿瘤细胞的迁移和侵袭创造条件,在NSCLC的转移过程中发挥重要作用。血管内皮生长因子(VEGF)则是肿瘤血管生成的关键调控因子,通过与其受体结合,促进内皮细胞的增殖、迁移和血管管腔的形成,为肿瘤的生长和转移提供营养支持。

作为度值最高的核心靶点(度值=18),ESR1在NSCLC中的异常表达与肿瘤细胞增殖及预后不良密切相关。染料木素的分子结构方面和雌激素有着相似之处,正因如此,它有可能通过一种竞争性结合的方式作用于ESR1,进而对雌激素诱导出来的那些能够促进增殖的信号起到阻断的作用。尤其是针对雌激素受体呈现阳性的非小细胞肺癌亚型来说,染料木素有着潜在的治疗方面的价值。这一机制与既往研究中,染料木素通过激素调节抑制乳腺癌细胞的报道一致,提示其作用可能具有跨癌种的共性。AKT1为PI3K-Akt信号通路的核心节点,其过度激活在NSCLC中普遍存在,可通过抑制细胞凋亡、促进血管生成驱动肿瘤进展。从分子对接所得到的结果来看,染料木素和AKT1进行对接之后,其对接得分是 -8.89kcal/mol ,而结合自由能则达到了 -47.77kcal/mol ,这样的结果充分表明了染料木素能够较为稳定地结合在AKT1的ATP结合域之上,并且还能够对AKT1的磷酸化活性起到抑制作用。这一抑制作用的强度和阳性对照化合物MK2206(其对接得分是 -8.50kcal/mol)所产生的作用强度是颇为接近的,因此提示着染料木素很有可能会以AKT1潜在抑制剂的身份来发挥相应的作用。细胞外信号MAPK1是MAPK信号通路的关键成员,其激活与KRAS突变密切相关,是NSCLC靶向治疗的难点。本研究发现,染料木素通过调控MAPK1参与细胞增殖调控,可能通过抑制ERK磷酸化阻断上游信号传导,诱导肿瘤细胞周期停滞于G1期,和已报道的异黄酮抑制MAPK通路的结论一致。

[基金项目]

大庆市指导性科技计划项目:基于网络药理学探究天然异黄酮类化合物抗NSCLC的机理(zdy-2024-88)。

[参考文献]

- [1]蔡明雅.肿瘤标志物检验用于肺癌诊断的应用价值分析[J].中国医药指南,2024,22(20):119-121.
- [2]Yu L,Tao G,Zhu L,et al.Prediction of pathologic stage in non-small cell lung cancer using machine learning algorithm based on CT image feature analysis[J].BMC Cancer.2019,19(1):464.
- [3]王静,杨志华,易宣洪,等.复方斑蝥胶囊治疗非小细胞肺癌的网络药理学研究[J].西部中医药,2023,36(03):28-34.
- [4]刘明.14-3-3 ζ -c-Src-integrin $\beta 3$ 复合物形成影响血小板活化的分子机制研究[D].中国科学技术大学,2022.

作者简介:

宁德利(1975--),男,汉族,黑龙江大庆人,副教授,博士,主要从事生物科学研究。