

[18] 郝文杰, 杨文明, 魏涛华, 等. 基于“肝络微癥积”学说探讨中医药抗肝豆状核变性肝纤维化治疗策略[J]. 北京中医药大学学报, 2022, 45(3): 307-312.

[19] 唐露露, 杨文明, 董 婷, 等. 肝豆扶木颗粒治疗肝肾亏虚兼痰瘀互结型 Wilson 病患者的临床疗效[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(12): 127-132.

[20] 张育贵, 张淑娟, 边甜甜, 等. 芍药苷药理作用研究新进展[J]. 中草药, 2019, 50(15): 3735-3740.

[21] 郑雪花, 杨 君, 杨跃辉. 没食子酸药理作用的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(1): 94-98; 102.

[22] Koppula P, Zhang Y L, Zhuang L, *et al.* Amino acid transporter SLC7A11/xCT at the crossroads of regulating redox homeostasis and nutrient dependency of cancer [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2018, 38(1): 12.

[23] Stockwell B R, Friedmann Angeli J P, Bayir H, *et al.* Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171 (2): 273-285.

[24] Kagan V E, Mao G, Qu F, *et al.* Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 81-90.

[25] Yang W S, Stockwell B R. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS harboring cancer cells [J]. *Chem Biol*, 2018, 15(3): 234-245.

[26] Yang W S, SriRamaratnam R, Welsch M E, *et al.* Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4[J]. *Cell*, 2014, 156(1-2): 317-331.

基于网络药理学和动物实验探讨葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病的作用

范尧夫, 许 娟, 孙洪平, 曹 琳*
(南京中医药大学附属中西医结合医院内分泌科, 江苏 南京 210028)

摘要: **目的** 基于网络药理学和动物实验探讨葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病 (T2DM) 的作用机制。**方法** 利用中药系统药理学技术平台 (TCMSP) 对葛根芩连汤有效成分进行筛选及靶点预测, GeneCards、OMIM、PharmGkb、TTD、DrugBank 数据库获得 T2DM 相关疾病靶标基因, Cytoscape 技术整合药物与疾病的交集靶点基因, 建立蛋白质相互作用 (PPI) 网络, R 语言进行 GO 功能、KEGG 通路富集分析。通过动物实验验证葛根芩连汤治疗 T2DM 的作用机制。**结果** 获得活性化合物 140 个, 有效靶点 212 个。葛根芩连汤治疗 T2DM 涉及靶点 204 个, 涉及炎症 TNF 信号通路等 119 条信号通路。与模型组比较, 葛根芩连汤可降低 T2DM 小鼠体质量、空腹血糖、空腹胰岛素、HOMA-IR、TNF- α 及 IL-17 水平 ($P<0.05$), 改善肝细胞形态, 减少脂质空泡数目, 减轻淋巴细胞浸润及脂质沉积, 降低肝组织 TNF- α 、NF- κ B 蛋白表达 ($P<0.05$)。**结论** 葛根芩连汤治疗 T2DM 具有多成分、多靶点特性, 可能通过 TNF- α 信号通路抑制炎症反应来发挥降糖疗效。

关键词: 葛根芩连汤; 2 型糖尿病; 网络药理学; 动物实验; TNF- α ; 炎症反应

中图分类号: R285.5; R966 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)10-3468-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.10.054

目前全球有超过 4.63 亿糖尿病患者, 到 2045 年糖尿病患病人数将达到 7 亿^[1-2]。在糖尿病人群中, 约 90% 以上为 2 型糖尿病 (T2DM), 其主要病理特征是胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞功能障碍^[3]。目前针对 T2DM 的治疗主要以化学药物为主, 虽然降糖疗效确切, 但常伴随各种不良反应的发生。研究已证实, 肝脏糖异生作用的增加是糖尿病发病机制中极为关键的一点, 且该作用可贯穿 T2DM 的整个

病程。因此, 调控肝脏异常糖异生作用, 减少肝糖原输入是治疗 T2DM 的重要且有前景的方法。近年来, 中医药在改善糖脂代谢方面取得了显著成效。葛根芩连汤作为治疗早中期肠道湿热型 T2DM 的代表方剂收录于《中国 2 型糖尿病防治指南》^[4]。葛根芩连汤出自《伤寒论》, 具有清利湿热功效, 在改善肝脏胰岛素抵抗、调节肝糖异生方面具有独特优势^[5-6], 但是其治疗 T2DM 的确切机制和靶点并不

收稿日期: 2022-08-09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81603585, 81804070); 江苏省卫生健康委医学科研项目 (M2021086); 江苏省自然科学基金面上项目 (BK20211388)

作者简介: 范尧夫 (1986—), 男, 硕士, 主治中医师, 从事中医药治疗内分泌代谢疾病临床、基础研究。Tel: 13701471403, E-mail: fanyaofu2010@163.com

* 通信作者: 曹 琳 (1984—), 女, 博士, 副主任中医师, 从事中医药治疗内分泌代谢疾病临床、基础研究。Tel: 15195985341, E-mail: guodongcl@163.com

明确。本研究运用网络药理学及分子对接技术,构建“药物-靶点-通路”多维网络,探讨葛根芩连汤治疗 T2DM 的分子机制,并通过在体实验验证其可能机制,为葛根芩连汤改善糖脂代谢提供依据。

1 材料与方法

1.1 网络药理学

1.1.1 葛根芩连汤有效成分、靶点筛选 利用中药系统药理学技术平台(TCMSP),以药物口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18 为筛选标准,获取葛根芩连汤有效成分,再借助 Uniprot 数据库,将其信息转换为对应的靶点基因。

1.1.2 2 型糖尿病疾病相关靶点基因收集 以“type 2 diabetes mellitus”为检索词,检索 GeneCards、OMIM、PharmGkb、TTD、DrugBank 数据库中 T2DM 靶点基因,删除重复靶点,利用 Uniprot 数据库进行人源基因转换。

1.1.3 葛根芩连汤有效成分、T2DM 共同靶点基因的筛选及韦恩图构建 运用 Rx64 软件处理葛根芩连汤有效成分的靶点数据和 T2DM 疾病靶点基因数据,然后进行匹配和交集基因筛选,绘制韦恩图。

1.1.4 有效成分-潜在作用靶点调控网络构建 采用 Cytoscape 3.8.2 软件构建“活性成分-潜在作用靶点”网络图,应用“Network Analysis”功能对网络的拓扑属性进行分析,根据 Degree 值筛选出具有核心调控作用的化合物。

1.1.5 靶蛋白相互作用(PPI)网络构建及核心靶点筛选 采用 STRING (<https://string-db.org>) 在线数据库对药物-疾病共同靶点进行 PPI 分析,物种定位为人,设定置信度阈值>0.90,将筛选的蛋白导入 Cytoscape 3.8.2 软件中构建 PPI 网络,对节点连接度进行分析,筛选出核心靶点。

1.1.6 基因功能及生物通路富集分析 利用 R 语言软件包对潜在靶基因进行基因本体(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析,设定阈值 $P<0.05$ 。GO 分析中从生物过程(biological process, BP)、细胞组成(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)3 个方面来探究潜在靶基因的功能水平,KEGG 分析中识别葛根芩连汤干预 T2DM 的生物学通路,以揭示其对 T2DM 的干预机制。

1.2 动物实验

1.2.1 动物 C57BL/6J 小鼠 40 只,雄性,SPF 级,12 周龄,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[实验动物生产许可证号 SCXK(沪)2012-0002],饲养条件为相对湿度 50%~70%。所有实验涉及动物的饲养和实验过程均严格遵守南京中医药大学附属中西医结合医院实验动物管理与保护的相关准则。

1.2.2 药物 葛根、黄芩、黄连、甘草均购自南京中医药大学附属中西医结合医院,经江苏省中医药研究院中药制剂室吴军教授鉴定为正品,四者按 8:3:3:2 比例进行配制^[5],采用传统水煎法提取后浓缩至生药量 1.56 g/mL,

取部分浓缩液稀释至 0.78 g/mL,分瓶保存于-20℃冰箱中。

1.2.3 试剂与仪器 盐酸吡格列酮片(江苏德源药业股份有限公司,批号 H20110048)。肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素 17(IL-17)ELISA 试剂盒和 TNF-α、核因子 κB(NF-κB)、β-actin 抗体(英国 Abcam 公司,批号 ab46070、ab100702、ab215188、ab16502、ab6276)。Biospectrum 凝胶成像系统(美国 UVP 公司);组织切片机(德国 Leica 公司);光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2.4 建模与给药 40 只小鼠适应性喂养 1 周后随机分为正常组(8 只)和造模组(32 只)。正常组给予普通饲料喂养,造模组给予高脂饲料(南通特洛菲饲料科技有限公司,批号 2017416,含脂量 60%)喂养,4 周后腹腔注射 1%链脲佐菌素溶液(45 mg/kg),持续 3 d,注射后 72 h,经尾静脉检测随机血糖≥16.7 mmol/L,即为造模成功。将造模组分为模型组、吡格列酮组和葛根芩连汤低、高剂量组,每组 8 只,吡格列酮组灌胃吡格列酮 30 mg/kg,葛根芩连汤低、高剂量组灌胃葛根芩连汤 10、20 g/kg^[5],正常组和模型组灌胃等量蒸馏水,每天 1 次,持续 8 周,每周称量小鼠体质量以调整灌胃量。

1.2.5 指标检测 造模成功后,每周固定时间采大鼠尾静脉血,用血糖仪检测空腹血糖(FBG)。末次给药后小鼠禁食不禁水 24 h,称量体质量,心脏采血后处死,全血离心后取血清,于-20℃下保存,根据 ELISA 试剂盒说明书检测血清空腹胰岛素(FINS)、TNF-α、IL-17 水平;采用稳态模型(HOMA)评估胰岛素抵抗(IR)数值,公式为 $HOMA-IR=FBG\times FINS/22.5$ 。取各组大鼠肝组织,部分于 10%福尔马林中固定,常规石蜡包埋、切片,HE 染色,部分冷冻保存,Western blot 法检测 KEGG 富集核心通路中相关蛋白表达,匀浆后使用全蛋白提取试剂盒提取总蛋白,采用 BCA 试剂盒测定浓度,进行 10% SDS-PAGE 电泳,电转移至 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶室温封闭 2 h,孵育一抗、二抗,化学发光法曝光、显影,使用凝胶成像分析系统检测各蛋白条带灰度值。

1.2.6 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理,符合正态分布的计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析;不符合正态分布或方差不齐者采用非参数秩和检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 葛根芩连汤有效成分及靶点筛选 葛根芩连汤化学成分共 489 种,按 OB≥30%、DL≥0.18 条件筛选后得到 146 种有效成分,其中葛根 4 种,黄芩 36 种,黄连 14 种,甘草 92 种,删除重复后共 140 种,见表 1。再使用 Uniprot 数据库对上述有效成分对应的靶点进行人源基因转换,去重合并后得到 212 个靶点。

2.2 药物-疾病共同靶点 将 GeneCards、OMIM、PharmGkb、TTD、DrugBank 数据库中 10 821 个 T2DM 靶标基因利用 Venn 作图软件,得到 204 个葛根芩连汤治疗

表 1 葛根芩连汤有效成分（OB 值前二十位）

编号	有效成分	OB/%	DL
MOL002907	corchoroside A_qt(黄麻苷 A_qt)	104. 95	0. 78
MOL002934	neobaicalein(黄芩新素)	104. 34	0. 44
MOL002311	glycyrol(甘草醇)	90. 78	0. 67
MOL008647	moupinamide(穆坪马兜铃酰胺)	86. 71	0. 26
MOL004990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-arylcoumarin(7,2',4'-三羟基-5-甲氧基-3-芳基香豆素)	83. 71	0. 27
MOL004904	licopyranocoumarin(甘草吡喃香豆素)	80. 36	0. 65
MOL004891	shinpterocarpin(shin-紫檀素)	80. 30	0. 73
MOL005017	phaseol(赤豆素)	78. 77	0. 58
MOL004841	licochalcone B(甘草查尔酮 B)	76. 76	0. 19
MOL002932	panicolin(二甲氧基黄酮)	76. 26	0. 29
MOL004810	glyasperin F(粗毛甘草素 F)	75. 84	0. 54
MOL001484	inermine	75. 18	0. 54
MOL000500	vestitol(维斯体素)	74. 66	0. 21
MOL012246	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavanone(5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮)	74. 24	0. 26
MOL005007	glyasperins M(甘草素 M)	72. 67	0. 59
MOL004941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one	71. 12	0. 18
MOL004959	1-methoxyphaseollidin(1-甲氧基莱豆素)	69. 98	0. 64
MOL000392	formononetin(刺芒柄花素)	69. 67	0. 21
MOL002927	skullcapflavone II(黄芩黄酮 II)	69. 51	0. 44
MOL002911	2,6,2',4'-tetrahydroxy-6'-methoxychalcone(2,6,2',4'-四羟基-6'-甲氧基查尔酮)	69. 04	0. 22

T2DM 相关的潜在靶点，见图 1。

2.3 PPI 网络构建与核心靶点 利用 STRING 数据库和 Cytoscape 软件，构建了包含 204 个药物-疾病共同靶点的 PPI 网络，见图 2。采用网络拓扑结构筛选得到核心靶点 18 个，处于核心位置前十的关键靶点有 JUN、AKT1、STAT3、MAPK3、FOS、MAPK1、MYC、MAPK14、ERS1、TP53，见图 3。

2.4 “中药有效成分-靶点-疾病”网络图构建 将葛根芩连汤的 4 味中药、140 种有效成分、204 个潜在靶点采用 Cytoscape 3. 8. 2 软件构建“中药有效成分-靶点-疾病”可视

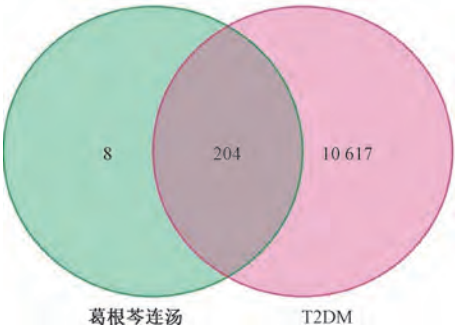
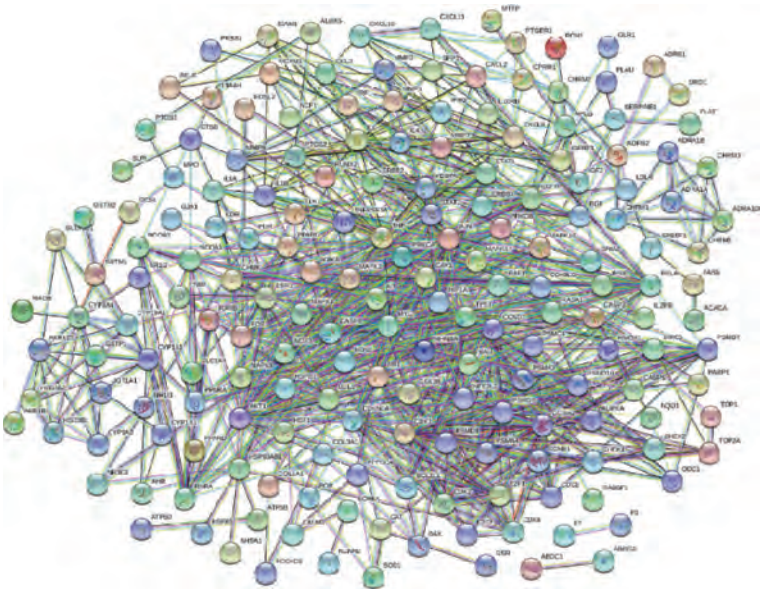


图 1 葛根芩连汤与 T2DM 交集靶点 Venn 图



注：每 1 个节点代表 1 个靶蛋白，靶蛋白之间的连线代表相互作用关系，连线越多，关联度越大。

图 2 葛根芩连汤与 T2DM 共同靶点 PPI 网络

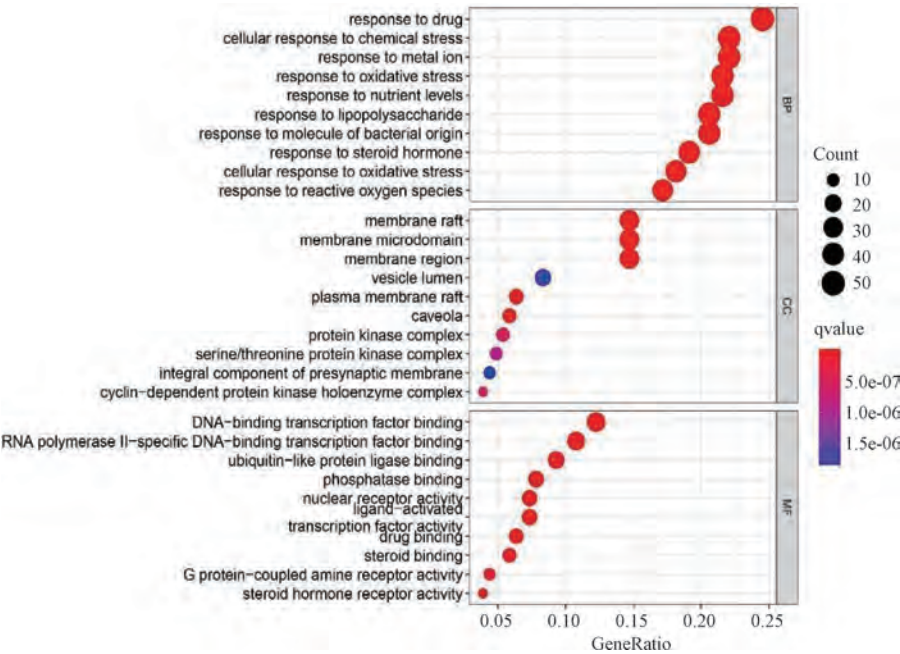


图 5 葛根芩连汤治疗 T2DM 的 GO 功能富集分析

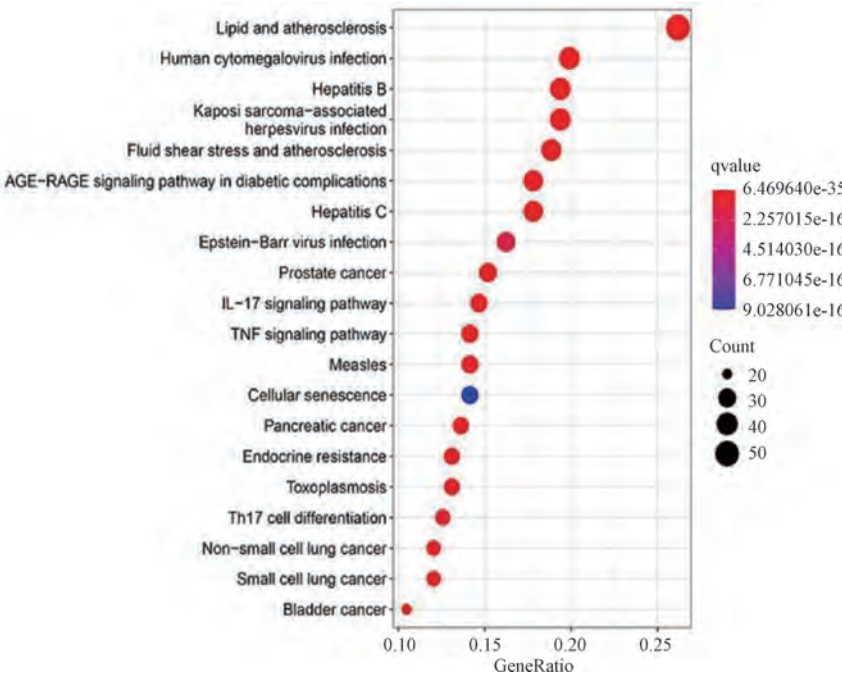


图 6 葛根芩连汤治疗 T2DM 的 KEGG 通路分析

中药复方的物质基础十分复杂，这导致了其作用机制研究的不明确性。近年来，网络药理学的兴起为中药复方的研究提供了新的方法和思路，也为更好地理解中药复方的药效和疗效机制提供了新的途径。

本研究通过数据库筛选，最终获得葛根芩连汤 140 种有效成分和 212 个对应药物靶点。采用 Venn 分析后得到 204 个交集靶点；通过构建 PPI 网络及网络拓扑结构筛选出关键基因 18 个。根据 degree 值筛选前 3 位有效成分为槲皮素、山柰酚、汉黄芩素。这 3 种成分均属于黄酮类化合物，可以提高胰岛素敏感性和改善胰岛 β 细胞数目^[12-15]。我国

一项大型横断面研究显示槲皮素摄入量与 T2DM 的患病率呈负相关^[12]。槲皮素是一种天然多羟基黄酮类化合物，可以降低机体氧化应激水平，抑制 INS-1 细胞凋亡，促进胰岛素分泌^[13]。山柰酚可以增加 Akt 和己糖激酶活性，降低肝脏中葡萄糖-6 磷酸酶的活性，并通过抑制肝脏中的糖异生发挥降糖作用^[16]。汉黄芩素可通过胰岛素受体-1/PI3K/碱性磷酸酶途径促进葡萄糖摄取和糖酵解，抑制肝细胞糖异生，改善胰岛素抵抗^[17]。上述研究表明，葛根芩连汤可能这 3 种有效成分作用于关键靶蛋白来发挥治疗 T2DM 的作用。

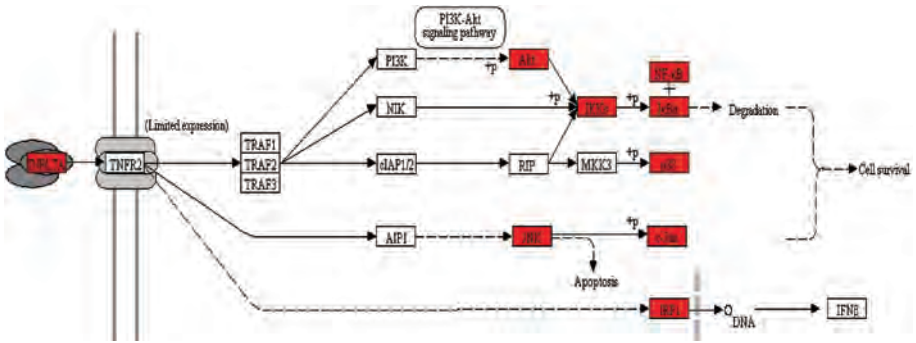
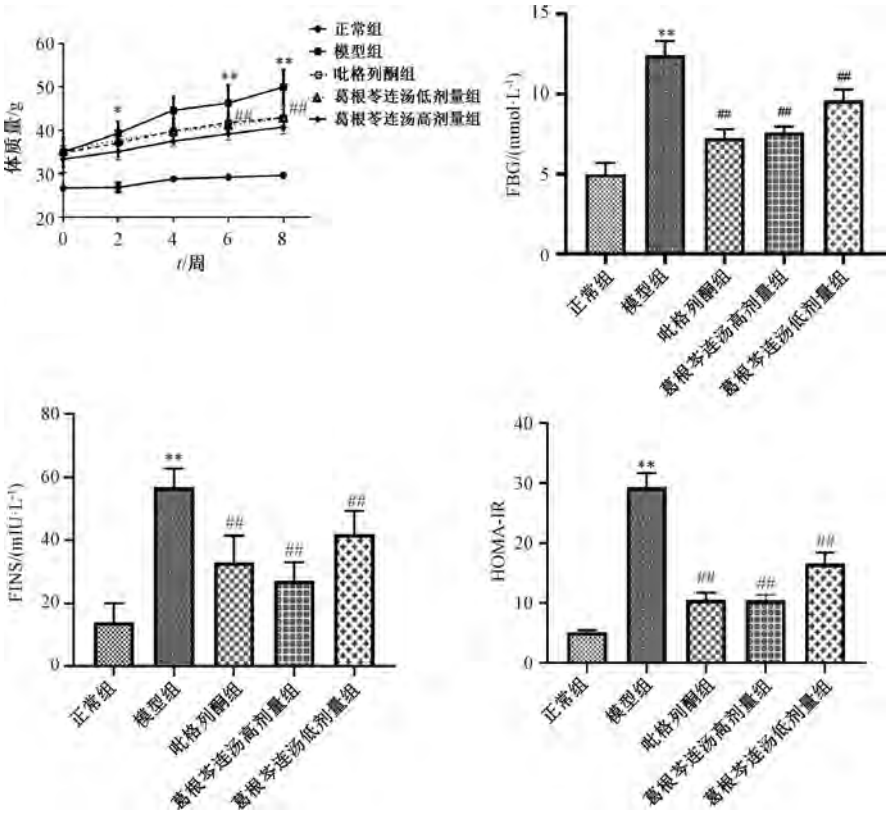


图 7 TNF 通路过程分析



注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

图 8 各组小鼠体质量、FBG、FINS 及 HOMA-IR 水平变化 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

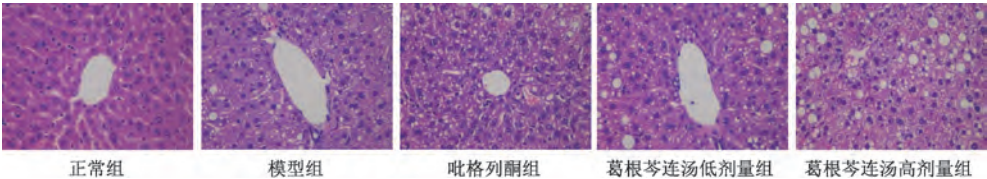


图 9 各组小鼠肝组织 HE 染色 ($\times 400$)

GO 分析表明葛根苓连汤可能作用于多细胞组分产生不同生物学功能，从而发挥治疗 T2DM 的功效。KEGG 富集分析结果显示葛根苓连汤治疗 T2DM 的关键靶点主要参与 TNF 信号通路等。随着 T2DM 发病机制的深入研究，很多学者认为 T2DM 可能是一种免疫性的炎症反应性疾病，其中 TNF- α 参与炎症反应及糖脂代谢的调节^[18-20]。

Skuratovskaia 等^[21]发现，TNF- α 可以抑制胰岛素受体底物-1 的磷酸化进而导致胰岛素抵抗的发生，增加 T2DM 病程的进展。另外研究表明，TNF- α 可以导致血管内皮细胞的炎症反应，增加内皮细胞的粘附性，使血管内皮屏障功能受损；此外，TNF- α 还可以促进血管内皮细胞的凋亡，导致内皮细胞的损伤和脱落，从而增加糖尿病血管病变的发生



注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。
图 10 各组小鼠肝组织 TNF-α、NF-κB 蛋白表达变化 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

风险^[22]。以上研究均表明，TNF-α 信号通路在 T2DM 中发挥重要作用。

为了验证网络药理学预测结果，动物实验结果发现，葛根芩连汤可以有效降低 T2DM 小鼠胰岛素、HOMA-IR、TNF-α 及 IL-17 水平，改善高血糖状态；减少肝细胞内的脂滴积聚，有助于维持肝细胞的正常结构和功能；降低肝组织 TNF-α、NF-κB 蛋白表达。本研究发现网络药理学预测的药物作用靶点与实际药物作用靶点有较高的一致性，表明网络药理学方法可以较准确地预测药物与疾病靶点的相互作用关系。

综上所述，葛根芩连汤治疗 T2DM 具有多成分、多靶点特性，其可能通过 TNF-α 信号通路抑制炎症反应发挥降糖疗效，这将为进一步研究葛根芩连汤治疗 T2DM 的基础研究提供一定的理论依据。

参考文献：

[1] Al-Quraishy S, Dkhil M A, Abdel-Moneim A E. Antihyperglycemic activity of selenium nanoparticles in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 6741-6756.

[2] International Diabetes Federation. IDF diabetes atlas 9th edition 2019[EB/OL]. [2020-11-26]. <https://www.diabetesatlas.org/en/sections/demographic-and-geographic-outline.html>.

[3] Huang X J, Liu G H, Guo J, et al. The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(11): 1483-1496.

[4] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版) [J]. *中华糖尿病杂志*, 2018, 10(1): 4-67.

[5] Sui M, Chen G F, Mao X D, et al. Gegen Qinlian Decoction ameliorates hepatic insulin resistance by silent information regulator1 (SIRT1) -dependent deacetylation of forkhead box O1 (FOXO1) [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 8544-8553.

[6] Yan Y, Du C H, Li Z Y, et al. Comparing the antidiabetic effects and chemical profiles of raw and fermented Chinese Ge-Gen-Qin-Lian decoction by integrating untargeted metabolomics and targeted analysis[J]. *Chin Med*, 2018, 13: 54.

[7] Ren Y H, Xiong P Y, Zhong C, et al. The effect of Gegen Qinlian Decoction on clinical prognosis and islet function for type 2 diabetic mellitus: A protocol for systematic review and meta-

analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(5): e24210.

[8] Cao Z B, Zeng Z L, Wang B H, et al. Identification of potential bioactive compounds and mechanisms of GegenQinlian decoction on improving insulin resistance in adipose, liver, and muscle tissue by integrating system pharmacology and bioinformatics analysis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 264: 113289.

[9] 王 琦, 乔 雪, 叶 敏. 葛根芩连汤中 42 个标志物的药代动力学研究揭示复方中小檗碱与甘草酸协同治疗糖尿病的作用机制[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33(9): 721-722.

[10] 隋 森, 蒋小飞, 范尧夫, 等. 葛根芩连汤含药血清通过 miR-146b/SIRT1 信号通路改善 HepG2 细胞胰岛素抵抗的研究[J]. *中药材*, 2019, 42(3): 630-635.

[11] 隋 森, 陈国芳, 茅晓东, 等. 葛根芩连汤对高脂诱导肝脏胰岛素抵抗小鼠 SIRT1/FoxO1 信号通路的影响[J]. *南京中医药大学学报*, 2018, 34(6): 578-582.

[12] Yao Z X, Gu Y Q, Zhang Q, et al. Estimated daily quercetin intake and association with the prevalence of type 2 diabetes mellitus in Chinese adults[J]. *Eur J Nutr*, 2019, 58: 819-830.

[13] Ahmed Q U, Sarian M N, Mat So'ad S Z, et al. Methylation and acetylation enhanced the antidiabetic activity of some selected flavonoids: *in vitro*, molecular modelling and structure activity relationship-based study [J]. *Biomolecules*, 2018, 8(4): 149.

[14] Jiang H, Yamashita Y, Nakamura A, et al. Quercetin and its metabolite isorhamnetin promote glucose uptake through different signalling pathways in myotubes [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 2690.

[15] Alkhalidi H, Moore W, Zhang Y, et al. Small molecule kaempferol promotes insulin sensitivity and preserved pancreatic β-cell mass in middle-aged obese diabetic mice[J]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015: 532984.

[16] Alkhalidi H, Moore W, Wang A, et al. Kaempferol ameliorates hyperglycemia through suppressing hepatic gluconeogenesis and enhancing hepatic insulin sensitivity in dietinduced obese mice [J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 58: 90-101.

[17] Yang Z C, Huang W, Zhang J S, et al. Baicalein improves glucose metabolism in insulin resistant HepG2 cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 854: 187-193.

[18] Wang W C, Zhang J, Wang H, et al. Vitamin D deficiency

enhances insulin resistance by promoting inflammation in type 2 diabetes [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12 (5) : 1859-1867.

[19] Yaghini N, Mahmoodi M, Asadikaram G R, *et al.* Serum levels of interleukin 10 (IL-10) in patients with type 2 diabetes [J]. *Iran Red Crescent Med J*, 2011, 13 (10) : 752.

[20] Arababadi M K, Nosratabadi R, Hassanshahi G, *et al.* Nephropathic complication of type-2 diabetes is following pattern of autoimmune diseases? [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2010, 87 (1) : 33-37.

[21] Skuratovskaia D, Zatolokin P, Vulf M, *et al.* Interrelation of chemerin and TNF-alpha with mtDNA copy number in adipose tissues and blood cells in obese patients with and without type 2 diabetes [J]. *BMC Med Genomics*, 2019, 12 (Suppl 2) : 40.

[22] van der Kolk B W, Kalafati M, Adriaens M, *et al.* Subcutaneous adipose tissue and systemic inflammation are associated with peripheral but not hepatic insulin resistance in humans [J]. *Diabetes*, 2019, 68 (12) : 2247-258.

基于网络药理学和分子对接研究华蟾素治疗胃癌的作用机制

李时超^{1,2}, 陈 腾^{1,3}, 秦凤凤⁴, 陈 超^{1,3}, 李五生², 王 杰^{1,3*}
(1. 上海中医药大学附属普陀医院, 上海 200062; 2. 西南医科大学附属中医医院, 四川 泸州 646000; 3. 安徽医科大学上海普陀中心临床学院, 上海 200062; 4. 成都中医药大学附属医院, 四川 成都 610075)

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接研究华蟾素治疗胃癌的作用机制。**方法** 通过药物靶点预测网站获得华蟾素成分靶点, 疾病数据库获取胃癌疾病基因, 将两者共同靶点进行 GO 功能富集分析及 KEGG 通路分析, Cytoscape 软件构建蛋白互作 (PPI) 网络和药物-靶点-疾病相互作用网络。通过 Kaplan-Meier 分析关键靶点与胃癌预后的相关性, 分子对接分析华蟾素成分与关键靶点的结合情况, 最后筛选出核心靶点, 并通过 TCGA、GEO 数据库进行单因素、多因素 Cox 回归分析以验证其与胃癌预后的关系。**结果** 华蟾素治疗胃癌涉及 70 个靶点、1 399 个生物学过程、75 个分子功能、145 条信号通路, 通过药物-靶点-疾病相互作用网络筛选出关键化合物 5 个、关键靶点 10 个, 其中与胃癌预后相关的有 7 个。华蟾素主要成分与胃癌关键靶点间有较好的结合活性, 核心靶点为 EGFR、MAPK3、ALB, 与胃癌预后密切相关。**结论** 华蟾素治疗胃癌的关键成分为华蟾毒它灵、蟾毒它灵、华蟾酥毒基、蟾蜍色胺 C、蟾毒灵, 它们可能通过多靶点、多途径来发挥作用。

关键词: 华蟾素; 胃癌; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R966 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)10-3475-08

doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2023. 10. 055

胃癌是严重威胁人类生命健康的恶性肿瘤, 虽然在全球范围内其发病率有所下降, 位居恶性肿瘤的第 6 位, 但是其死亡率却位居第 3 位^[1]。我国是胃癌的高发地区, 其发病率和死亡率居恶性肿瘤的第 2 位^[2]。胃癌的治疗是以手术为主, 辅以化疗、放疗等综合治疗。中医药是胃癌防治中重要的组成部分, 在癌前病变的预防, 延长患者生存期, 减轻化疗不良反应等方面有一定的优势^[3]。

华蟾素是蟾酥的提取物, 可用于治疗胃癌, 研究显示, 华蟾素能提高晚期胃癌化疗的反应率和疾病控制率, 改善

晚期胃癌患者的生活质量^[4], 但是由于华蟾素有效成分比较复杂, 进一步对其有效成分和作用机制的研究是促进华蟾素临床应用的基础。

网络药理学是基于系统生物学和生物信息学, 通过将药物、靶点、疾病靶基因交集在具有多层次交互作用的生物网络系统中的一门新学科^[5]。分子对接是基于计算机模拟结构的方法, 通过对接的手段在分子水平上预测配体-受体的相互作用, 或评估构效关系, 以识别具有治疗意义的化合物的一项新技术^[6]。本研究拟通过网络药理学和分子

收稿日期: 2021-09-02
基金项目: 国家自然科学基金项目 (81973625); 上海市医学重点专科建设计划项目 (ZK2019B18); 上海市普陀区临床重点专科项目 (2016ptzk01); 上海中医药大学预算内项目 (2019LK037)
作者简介: 李时超 (1990—), 男, 博士生, 从事中西医结合防治胃肠肿瘤研究。E-mail: shichaoli2009@163.com
*** 通信作者:** 王 杰 (1983—), 男, 副教授, 硕士生导师, 从事中西医结合防治胃肠肿瘤研究。Tel: (021) 22233189, E-mail: wangjie4177@126.com
网络出版日期: 2022-09-23
网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220922.1516.004.html>