

[17]

肖志彬, 贾韩学, 刘小雷. β -谷甾醇药理学活性的研究现状[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(8): 66-68.

[18]

王 莉, 杨永杰, 陈松华, 等. β -谷甾醇对子宫颈癌细胞微管系统的影响[J]. 中华医学杂志, 2006, 86(39): 2771-2775.

[19]

汤成泳, 孔令希, 罗 成, 等. 丹参酮对左氧氟沙星在盆腔炎模型大鼠子宫组织中分布的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2017, 42(5): 494-498.

[20]

刘 娟, 刘 颖. 丹参药理活性成分研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(7): 15-17.

[21]

郭傲玮, 蒲位凌, 骆莹莹, 等. 丹参雌激素样作用及机制研究近况[J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(5): 324-328.

[22]

周志远, 卢 群, 刘 洋, 等. 豆甾醇的研究及开发进展[J]. 中国当代医药, 2015, 22(24): 15-17.

[23]

李庆勇, 姜春菲, 张 黎, 等. β -谷甾醇、豆甾醇诱导人肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(5): 1173-1175.

[24]

Riley T, Sontag E, Chen P, *et al.* Transcriptional control of human p53-regulated genes[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(5): 402-412.

[25]

张自阔, 李河川, 何 谷. 基于 Bcl-2 蛋白关键位点抑制剂的研究[J]. 华西药学期刊, 2017, 32(4): 347-353.

[26]

Andera L. Signaling activated by the death receptors of the TNFR family[J]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2009, 153(3): 173-180.

[27]

陈 泓. microRNA 与雌激素受体关系的研究进展[J]. 广西医科大学学报, 2017, 34(8): 1250-1253.

[28]

谢辛慈, 吴 佳, 潘芬芬, 等. 雌激素受体与肿瘤发生的研究进展[J]. 药物生物技术, 2015, 22(2): 156-159.

[29]

Paech K, Webb P, Kuiper G G, *et al.* Differential ligand activation of estrogen receptor ER α and ER β at AP1 sites[J]. *Science*, 1997, 277(5331): 1508-1510.

[30]

李鹏程, 刘玉玲, 党 群, 等. 雌激素受体 α 、雌激素受体 β 、激活蛋白 1、血管内皮生长因子在大鼠子宫内腺异位症模型中的表达及意义[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(14): 7-11.

[31]

杨丽娟, 王永珍, 张 玮, 等. 血清白细胞介素-6、8 在异位妊娠早期诊断中的价值探讨[J]. 江西医药, 2009, 44(6): 553-555.

[32]

Chen Q, Zhang Y, Tong M, *et al.* Pre-treatment with calcium prevents endothelial cell activation induced by multiple activators, necrotic trophoblastic debris or IL-6 or preeclamptic sera: possible relevance to the pathogenesis of preeclampsia[J]. *Placenta*, 2013, 34(12): 1196-1201.

[33]

李艳娟. 宫外孕 II 号联合甲氨蝶呤、米非司酮治疗异位妊娠随机平行对照研究[J]. 实用中医内科杂志, 2015, 29(10): 109-110.

[34]

韩 慧, 罗庭威. 加味宫外孕 II 号方治疗陈旧性宫外孕包块 45 例[J]. 河南中医, 2013, 33(5): 738-739.

基于网络药理学的金复康口服液治疗非小细胞肺癌机制

陈石秀¹, 陈佳蕾¹, 谢瑞芳¹, 周 昕¹, 许 玲², 董昌盛¹, 杨 铭^{1*}
(1. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032; 2. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437)

摘要: **目的** 基于网络药理学分析金复康口服液治疗非小细胞肺癌机制。**方法** 通过建立化学成分、靶点、疾病数据库, 进行主要活性成分和靶标筛选, 并对其进行多层次复杂网络分析、GO 及 KEGG 通路富集分析。**结果** 金复康口服液中筛选出 85 个满足类药性评估的主要活性化合物, 以及 130 个复方的主要作用靶标。多层次网络模型分析显示, 复方网络与疾病网络具有较好的节点相似性; 生物功能的富集分析显示, 与疾病显著共关联的信号通路主要有 PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路、催乳激素信号通路及凋亡信号通路等 7 条通路。**结论** 网络药理学可从整体上揭示金复康口服液治疗非小细胞肺癌的作用机制, 并为该制剂二次开发及基础研究提供依据。

关键词: 金复康口服液; 非小细胞肺癌; 网络药理学

中图分类号: R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)07-1547-09

doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2019. 07. 013

收稿日期: 2018-09-20
基金项目: 上海市教育委员会科研创新项目 (15ZZ066); 上海市临床药学重点专科建设项目 (沪卫计药政 [2017] 5)
作者简介: 陈石秀 (1994—), 男, 硕士。Tel: 18621830191, E-mail: chen-csx@foxmail.com
* 通信作者: 杨 铭 (1979—), 男, 副主任药师, 研究方向为药物信息学在中医药领域的应用。Tel: (021) 64385700-7305, E-mail: yangpluszhu@sina.com

Action mechanisms for Jinfukang Oral Liquid in treating non-small cell lung cancer based on network pharmacology

CHEN Shi-xiu¹, CHEN Jia-lei¹, XIE Rui-fang¹, ZHOU Xin¹, XU Ling², DONG Chang-sheng¹, YANG Ming^{1*}

(1. Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China; 2. Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China)

KEY WORDS: Jinfukang Oral Liquid; non-small cell lung cancer; network pharmacology

由于近年来的空气质量降低及人们生活方式改变,肺癌发病率逐年增加,以非小细胞肺癌最高^[1]。金复康口服液是由上海中医药大学刘嘉湘教授在 30 多年临床实践基础上,以中医“养正积自除”理论为依据所得的经验方^[2-3],主要由黄芪、北沙参、麦冬、女贞子、山茱萸、绞股蓝、淫羊藿、天冬、重楼、石见穿、石上柏、葫芦巴组成,功效益气养阴、清热解毒,用于非小细胞肺癌治疗时临床疗效良好^[4],但其作用机制尚不明确。

网络药理学^[5-6]是从整体生物水平探讨疾病-机体-药物的关联性,通过组学、高通量筛选、网络可视化、网络分析等技术探讨作用机制、靶点预测、疾病机理等各个方面。本研究将通过该方法从整体上揭示金复康口服液治疗非小细胞肺癌生物分子机制,并为该值二次开发及基础研究提供依据。

1 方法

1.1 化学成分及作用靶点数据库建立 由中国科学院中药化学成分数据库^[7]、TCM Database @ Taiwan 数据库^[8]、TCM-ID 数据库^[9]检索得到,金复康口服液主要化学成分为皂苷类(如黄芪甲苷、异黄芪苷、黄芪皂苷乙、大豆皂苷、人参皂苷类、薯蓣皂苷等)、黄酮类(如淫羊藿苷、淫羊藿次苷等)、有机酸类(如齐墩果酸、熊果酸、女贞子酸等)等,而其 2D 化学结构信息由 PubChem 或 ChEMBL 数据库^[10]检索得到,将上述信息综合后建立化学成分数据库。另外,各化学成分作用靶点信息由 HIT^[10]、TCMID 数据库检索得到,并应用 NCBI 数据库^[11]的 Gene 基因搜索功能对其进行标准化,并建立相应数据库。结果,共得到化学成分 1 505 种,作用靶标 6 424 个。

1.2 疾病及相关基因信息数据库建立 从人类孟德尔遗传数据库^[12](OMIM)与 TTD 数据库^[13]中搜索与非小细胞肺癌相关的基因信息,建立疾病及相关基因信息数据库。合并 2 个数据库检索结果

后,得到 29 个相关基因,见表 1。

表 1 非小细胞肺癌相关基因

Tab. 1 Relevant genes of non-small cell lung cancer

基因 ID	基因名称	基因 ID	基因名称	基因 ID	基因名称
5290	PIK3CA	4313	MMP2	3791	KDR
3659	IRF1	207	AKT1	5133	PDCD1
1956	EGFR	4312	MMP1	51162	EGFL7
673	BRAF	4322	MMP13	4780	NFE2L2
50970	TSG11	4321	MMP12	4102	MAGEA3
3320	HSP90AA1	5347	PLK1	3958	LGALS3
4323	MMP14	958	CD40	10063	COX17
2339	FNTA	1728	NQO1	2188	FANCF
4318	MMP9	11334	TUSC2	4320	MMP11
1017	CDK2	238	ALK		

2 结果

2.1 化学成分及作用靶标筛选

2.1.1 化学成分 对化学成分的类药性评估主要是其 AMDE(吸收、分布、代谢、排泄)性质^[14],将理化特征与已知药物相同特征进行比较时,可有效评估类药性。本研究采用 Bickerton 等^[15]在 2012 年提出的类药性评估指标 QED,公式为 $QED = \exp(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \ln d_i)$,其中 d 为整合 8 种主要分子描述符的渴求函数,分别为分子量、油水分配系数、氢键受体数、氢键供体数、分子极性表面积、可旋转键数、芳香环数及非药子结构数。

课题组前期研究显示,QED 可有效评估化合物 ADME 性质^[16];本研究通过计算 DrugBank 数据库中 FDA 批准上市的 1 805 种药物 QED,并根据其分布选择 0.1 作为阈值,对化学成分进行初步筛选,共得到 1 099 种满足类药性评估者,剔除没有靶标信息者后,最后得到 189 种(MDL)。

2.1.2 作用靶标 本研究采用基于二项分布的富集评分算法^[17]来筛选作用靶标,计算靶标分值 GS,公式为

$$GS_i = \begin{cases} \frac{-\log_{10} P_i(X > k)}{\text{Rank}[P_i(X > k)]} & \text{if } P_i(X > k) < 0.001 \\ 0 & \text{if } P_i(X > k) \geq 0.001 \end{cases}$$

其中 $P_i(X \geq k) = \sum_{m=k}^n C_n^m (p)^m (1-p)^{n-m}$ 表示靶标基因 i 同时被至少 k 种化学成分靶中的概率, n 为总化学成分数, P 为靶标数据库中同时靶标于同一基

因的平均化合物数占比, Rank 是求秩次函数, 共得到 130 个 GS 得分不为 0 的基因, 即主要作用靶标, 见表 2。

表 2 金复康口服液主要作用靶标
Tab.2 Main action targets for Jinfukang Oral Liquid

基因 ID	基因名称	基因 ID	基因名称	基因 ID	基因名称
1374	CPT1A	840	CASP7	9429	ABCG2
1576	CYP3A4	841	CASP8	983	CDK1
196	AHR	59	ACTA2	1544	CYP1A2
207	AKT1	7040	TGFB1	1559	CYP2C9
2099	ESR1	1543	CYP1A1	43	ACHE
2100	ESR2	1244	ABCC2	5054	SERPINE1
2353	FOS	1545	CYP1B1	5444	PON1
335	APOA1	240	ALOX5	54575	UGT1A10
3383	ICAM1	4128	MAOA	54576	UGT1A8
3558	IL2	1017	CDK2	54577	UGT1A7
3569	IL6	142	PARP1	54600	UGT1A9
3725	JUN	1571	CYP2E1	6347	CCL2
3949	LDLR	1956	EGFR	2194	FASN
4843	NOS2	2064	ERBB2	1906	EDN1
4846	NOS3	2729	GCLC	2167	FABP4
5468	PPARG	2876	GPX1	2641	GCG
5743	PTGS2	2950	GSTP1	3156	HMGCR
6648	SOD2	3162	HMOX1	3309	HSPA5
7124	TNF	332	BIRC5	3952	LEP
7157	TP53	3458	IFNG	4023	LPL
7412	VCAM1	351	APP	51	ACOX1
7422	VEGFA	3565	IL4	51228	GLTP
836	CASP3	3586	IL10	5328	PLAU
847	CAT	3630	INS	5465	PPARA
1026	CDKN1A	3643	INSR	6256	RXRA
213	ALB	367	AR	6514	SLC2A2
2936	GSR	4363	ABCC1	6720	SREBF1
3091	HIF1A	4780	NFE2L2	7351	UCP2
338	APOB	4790	NFKB1	4609	MYC
3553	IL1B	4792	NFKBIA	8856	NR1I2
3576	CXCL8	54658	UGT1A1	1666	DECR1
4313	MMP2	54659	UGT1A3	10891	PPARGC1A
4318	MMP9	595	CCND1	1277	COL1A1
4353	MPO	598	BCL2L1	1728	NQO1
4953	ODC1	6401	SELE	860	RUNX2
5243	ABCB1	6566	SLC16A1	2932	GSK3B
54205	CYCS	6647	SOD1	3157	HMGCS1
5594	MAPK1	7099	TLR4	6721	SREBF2
5595	MAPK3	7150	TOP1	183	AGT
5599	MAPK8	723961	INS-IGF2	31	ACACA
581	BAX	7299	TYR	34	ACADM
596	BCL2	7498	XDH	355	FAS
5970	RELA	842	CASP9	47	ACLY
653361	NCF1				

2.1.3 活性成分筛选 在筛选出主要作用靶标后, 参考文献 [17] 方法计算活性得分 CS, 公式为 $CS_i = \frac{1}{N_i} \sum_{j=1}^{N_i} GS_j$, 其中 N_i 为化合物 i 靶标基因总数, 并以 0.77 为阈值筛选出 85 种活性成分, 覆盖

了“2.1.2”项下全部 130 个靶标。见表 3。
2.2 生物靶标多层次网络模型 本研究建立 2 种不同程度的扩展网络, 即最近邻扩展网络、最短路径扩展网络, 主要包括 (1) 以 HIPPIE^[18-19] 人类基因交互作用数据为基础, 建立以 16 503 个基因

表 3 金复康口服液主要活性成分

Tab.3 Main active components of Jinfukang Oral Liquid

化合物	CS 得分	化合物	CS 得分
bilobetin	30.625 0	daidzein	2.650 2
α-humulene	28.952 5	baohuoside I	2.637 4
pulegone	28.460 0	dioscin	2.621 0
isoamyl alcohol	28.374 1	diosgenin	2.620 0
gamma-tocopherol	26.176 5	2'-hydroxy-3',4'-dimethoxy-isoflavan-7-O-β-D-glucoside	2.570 3
ruscogenin	19.459 3	baogongteng B/scopoletin	2.263 2
hydroxytyrosol	17.601 5	icariin	2.216 8
luteolin-7-O-glucoside	17.601 5	isoimperatorin	2.180 2
methyl palmitate	17.184 5	eugenol	2.143 8
6-O-malonyl-β-methyl-D-glucopyranoside	15.583 0	ferulic acid	2.079 2
5-hydroxymethylfurfural	14.168 0	ursolic acid	1.939 3
isoasarone	13.997 7	guanosine	1.912 1
oleuropein	9.737 9	γ-sitosterol	1.888 3
α-amyrin	9.724 8	safrole	1.860 9
hexanal	9.194 9	isopimpinellin	1.757 1
taxifolin	8.819 8	adenosine/adenine nucleoside	1.711 4
tricin	8.725 5	naringenin	1.684 0
benzyl cinnamate	7.904 4	berberine	1.671 0
homoorientin/isoorientin	7.893 5	xanthotoxin/8-methoxypsoralen	1.668 6
rosmarinic acid	7.238 1	chlorogenic acid	1.635 6
amentoflavone	7.214 2	gallic acid	1.517 7
o-xylene	6.464 6	trigonegenin B	1.499 0
green oil	6.464 6	13-hydroxy-9,11-octadecadienoic acid	1.499 0
myristicin	6.464 6	quercetin	1.495 0
stigmasterol	5.733 0	oleanolic acid	1.411 5
eriodictyol	4.853 6	caffeic acid	1.212 4
protocatechuic acid	4.724 3	salicylic acid	1.205 0
3,4,5-trihydroxybenzoic acid	4.200 0	formononetin	1.170 3
loganin	3.880 6	luteolin	1.093 6
loganoside	3.880 6	lupeol	1.089 1
arjunolic acid	3.632 1	acetic acid	1.063 5
2'-hydroxy-ophiopogonone A	3.342 8	rhodiolside	1.056 8
rutin	3.072 7	kaempferol	1.032 2
panaxynol	3.063 2	salidroside	1.004 5
β-sitosterol	3.025 9	3-O-[α-L-rhamnopy-ranosyl (1→4)]-β-D-glucopyranoside-(25S)-5β-spirostan-3β-ol	0.959 8
riboflavin	3.013 8	vanillin	0.899 1
malonic acid	2.971 0	benzoic acid	0.896 6
anethole	2.956 1	sucrose	0.887 1
emodin	2.785 4	apigenin	0.859 2
isorhamnetin	2.775 2	chryseriol	0.842 0
styrene	2.754 4	quercetin-3-O-α-D-arabinfuranosi	0.842 0
quercetin-3-O-glucoside/quercetin-3-O-glucoside	2.723 3	oleic acid	0.771 3
isoquercitrin/isoquercetrin	2.723 3		

为节点、230 434 条边的基因/蛋白交互作用 (PPI) 网络；(2) 在 PPI 网络基础上，分别提取非小细胞肺癌相关基因及其相应的边，建立相应疾病基因网络；(3) 在 PPI 网络基础上，提取作用靶标及其相应的边，建立金复康口服液标网络；(4) 网络扩展^[20]，最短路径扩展网为计算所有疾病/复方靶标在网络中两两之间的距离，选取不大

于 3 的疾病/复方靶标，并将此路径上的相关联基因加入扩展网中，而最邻近扩展网为将所有直接与疾病/复方靶标在网络中相邻接的节点加入扩展网络中，其扩展程度大于前者。

本研究计算的基本属性如下：(1) 中心度相关属性，有助于发现复杂网络关键节点，用于发现疾病基因或者复方靶标的核心基因或靶标，本研究

计算度数中心度（Degree）及中间中心度（Betweenness）；（2）网络密度与群聚系数，用以衡量复杂网络中靶标间关联紧密度，网络全局群聚系数^[21]为 3 个靶标基因可容纳的邻接边总值占整个网络的比值；（3）网络直径与平均最短距离，用

表 4 金复康口服液与非小细胞肺癌靶标多层次网络比较 ($\bar{x}\pm s$)

指标	最短路径扩展网		最近邻扩展网		核心网	
	金复康口服液	非小细胞肺癌	金复康口服液	非小细胞肺癌	金复康口服液	非小细胞肺癌
中心度	38.01±37.27	18.11±13.26	41.65±75.38	44.67±66.39	5.86±6.76	1.43±1.91
密度	0.042 2	0.100 1	0.006 0	0.016 1	0.045 8	0.052 9
中间中心度	609.45±1 389.37	114.27±153.95	5 664.64±71 416.33	1 996.39±15 456.89	68.44±168.52	7.64±16.95
节点数	902	182	6 907	2 783	129	28
群聚系数	0.176 9	0.280 3	0.085 4	0.131 4	0.284 9	0.103 4
直径	5	5	6	6	6	5
平均最短距离	2.352 8	2.262 6	2.640 5	2.435 2	2.748 3	2.573 5

然后，计算网络节点之间的重叠性相似度，公式为 $\text{Sim}(A, B) = \frac{\text{Count}(A \cap B)}{\min[\text{Count}(A), \text{Count}(B)]}$ ，其中 A、B 分别为网络 A、B 节点，分子为 2 个网络重叠的节点个数，分母为 2 个网络中节点数较小

表 5 金复康口服液与非小细胞肺癌网络节点相似度比较

对象	最短路径扩展网		最近邻扩展网		核心网	
	金复康口服液	非小细胞肺癌	金复康口服液	非小细胞肺癌	金复康口服液	非小细胞肺癌
金复康口服液	1	0.637 3	1	0.853 8	1	0.25
非小细胞肺癌	0.637 3	1	0.853 8	1	0.25	1

2.3 生物功能分析 将 130 个作用靶标进行通路及基因本体的富集分析，主要采用 KEGG 通路数据库^[22]的通路信息，以及 Gene Ontology 数据库^[23]基于基因的分子功能、生物过程、细胞组件 3 个 GO 信息，超几何分布模型评估靶点群（Gene Set）是否与特定的基因本体及通路显著关联，公式为

$$P = 1 - \sum_{i=0}^{k-1} \frac{\binom{M}{i} \binom{N-M}{n-i}}{\binom{N}{n}}$$
，其中 N 是总基因数， M

是某通路或 GO 已注释的基因数， n 是待分析靶标， k 是两者共享基因数。经过 Bonferroni 法调整的 P 值可反映作用靶标与通路或 GO 的关联强度，本研究以调整的 $P < 0.01$ 为关联显著。

GO 富集分析（图 1~3）显示，金复康口服液、非小细胞肺癌靶标在 GO 水平上显示出共关联性，在前 400 个主要关联的 GO 分类中两者共关联占比达 49.24%，与两者显著共关联的 GO 分类主要有蛋白质结合、凋亡过程、化学物质反应等。

以衡量网络中靶标的分散程度。表 4 显示，金复康口服液在最短路径扩展网、最邻近扩展网、核心网的节点数较多，平均中心度较高，表明其影响靶标和靶标之间交互作用较多。

者。表 5 显示，从核心网、最近邻扩展网、最短路径扩展网层面测定复方网络与相应疾病网络的节点相似度分别为 0.241、0.854、0.637，节点重叠度分别为 24.1%、85.4%、63.7%。

KEGG 富集分析（图 4）显示，在 $P < 0.01$ 水平上金复康口服液靶标与 35 条信号通路显著关联，而非小细胞肺癌靶标关联为 11 条，与两者均有关联为 7 条（表 6），主要作用于 PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路、催乳激素信号通路、凋亡信号通路等。

表 6 与金复康口服液、非小细胞肺癌靶标显著关联的信号通路

Tab. 6 Signaling pathways significantly associated with targets for Jinfukang Oral Liquid and non-small cell lung cancer			
KEGG ID	信号通路	P 值	计数
hsa04151	PI3K-Akt	2.66×10^{-9}	25
hsa04668	TNF	9.57×10^{-18}	23
hsa04068	FoxO	3.17×10^{-8}	15
hsa04917	Prolactin	1.37×10^{-9}	13
hsa04510	Focal adhesion	3.84×10^{-4}	12
hsa04915	Estrogen	3.05×10^{-6}	11
hsa04012	ErbB	6.65×10^{-6}	10

大量研究表明^[24-26]，PI3K-Akt 信号通路与非小细胞肺癌相关性较高，其活性成分可能是导致细

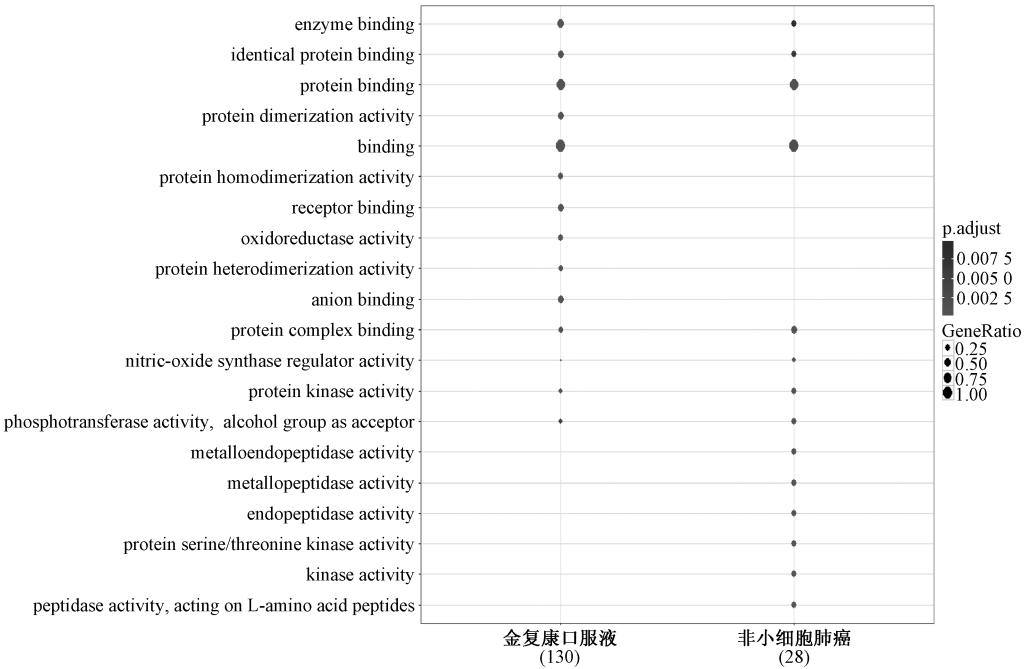


图 1 基于分子功能的 GO 富集分析

Fig. 1 GO enrichment analysis based on molecular functions

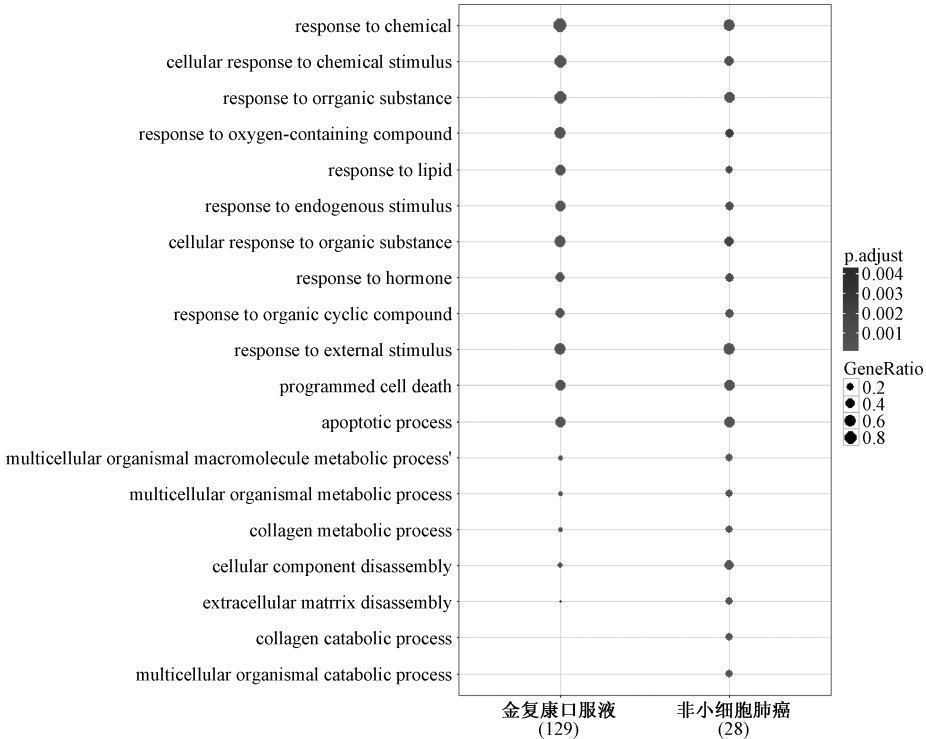


图 2 基于生物过程的 GO 富集分析

Fig. 2 GO enrichment analysis based on biological processes

胞异常生长增殖的因素，导致正常细胞在传导中基因畸变；图 5 显示，PI3K-Akt 信号通路又与 NF-κB 信号通路、细胞凋亡信号通路、p53 信号通路等相关联。仅从 PI3K-Akt 信号通路靶标来看，金复康口服液作用机制可能是通过调控 Akt 蛋白及其下游

Casp9、BCL-2、NF-κB、p53 等多个蛋白，共同作用于非小细胞肺癌发展。

在 PI3K-Akt 信号通路中通过配体与 RTK 结合而激活，导致 PI3K 寡集于细胞膜附近，将 PIP2 转化为 PIP3，后者又可与 PKT/Akt 结合，Akt 从

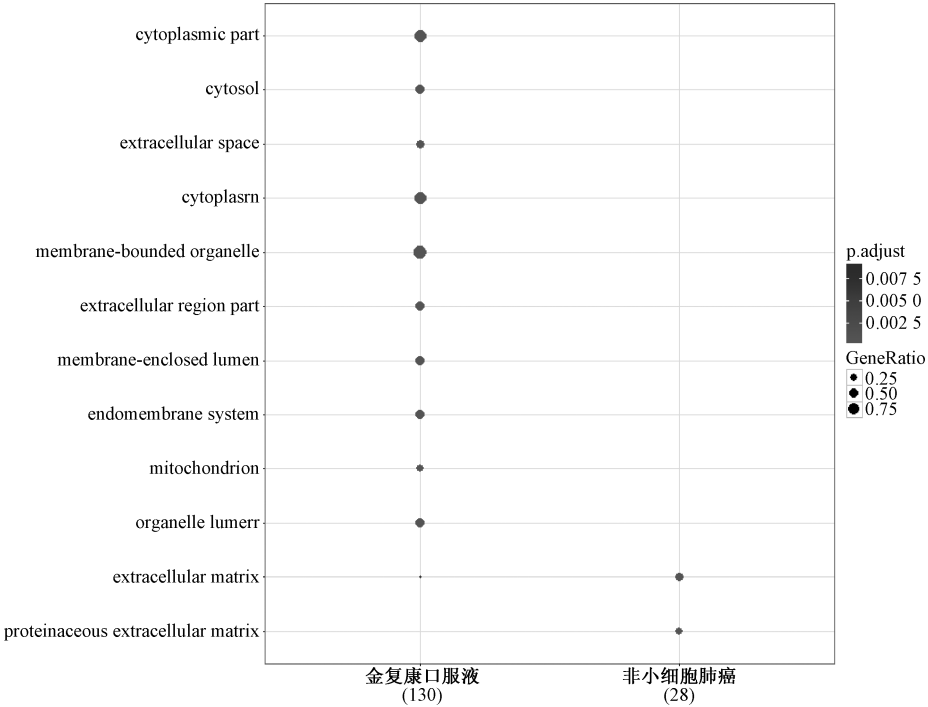


图 3 基于细胞组件的 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis based on cellular components

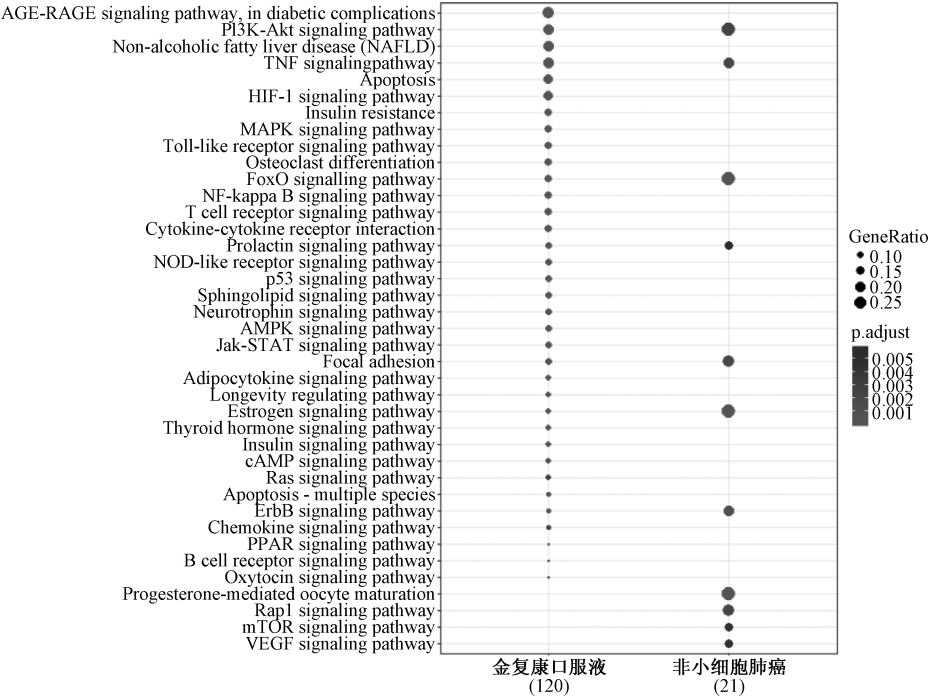


图 4 KEGG 富集分析

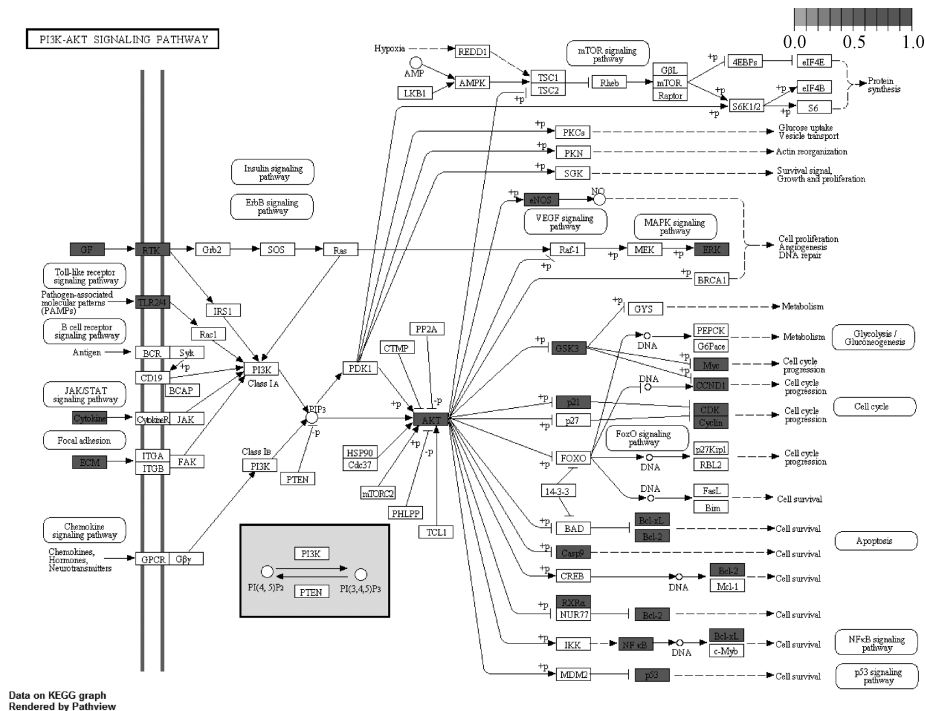
Fig. 4 KEGG enrichment analysis

细胞质转移至细胞膜，并在 PDK1、PDK2 辅助下导致 Akt 蛋白 Thr308、Ser473 位点磷酸化而激活。活化 Akt 下游的多条信号通路转导可促进非小细胞肺癌发展^[27]，如磷酸化 Akt 抑制 GSK3，影响细胞周期进程；抑制 Casp9，抑止细胞凋亡；激活 IKK、

NF-κB 信号通路，促进肿瘤生长发展，并且其下游可能会抑制富集度较高的 FoxO 通路，抑制相关蛋白合成，从而抑制肿瘤发生发展^[28]，以上可能是金复康口服液治疗非小细胞肺癌的作用机制，表明该制剂可能同时参与体内多种生物过程。

TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、NF-κB 信号通路、细胞凋亡信号通路等相关^[29]，TNF 相关受体及其相关因子 TRAFs 家族成员能介导多种下游信号通路的信号传导。在 NF-κB 信号通路中，

TRAF2、TRAF5、TRAF6 在激活 IKK 复合中起到重要作用；促炎症细胞因子 TNF-α 也可引起该信号通路激活，从而加速细胞生长，对肿瘤发生发展及转移有着明显的促进作用^[30]。



注：标黑者是金复康口服液作用靶标

图 5 PI3K-Akt 信号通路

Fig. 5 PI3K-Akt signaling pathways

3 讨论

本研究通过网络药理学对金复康口服液化学成分和作用靶标进行筛选，根据类药性评估结合二项分布，得到 85 种满足类药性评估的主要活性成分和 130 个复方的主要作用靶标。为了能在更大程度上评估疾病网络与复方靶标网络之间的相关性，本研究又扩展建立了复方生物靶标的多层次复杂网络模型，揭示了金复康口服液与非小细胞肺癌之间内在的关联性；通过主要作用靶标的基因本体及信号通路，进一步揭示了该制剂治疗非小细胞肺癌的部分作用机制。蒋义鑫等^[31]报道，金复康口服液通过抑制 PI3K-Akt 信号通路激活来抑制 A549 细胞增殖，诱导晚期细胞凋亡，其具体机制是通过下调 Akt 在 T308、S473 位点磷酸化来使 Akt 信号通路失活，与本研究结果一致；王志超等^[32]发现，金复康口服液能联合化疗减少非小细胞肺癌晚期患者 VEGF 分泌，也能抑制 PI3K-Akt 信号通路激活；其他研究也表明，金复康口服液可通过降低 Bcl-2 表达，增加 Bax、Fas 表达来诱导 LAX-83 人肺腺癌

细胞凋亡^[33-34]，同时上调 p53、p21 蛋白表达，阻止细胞周期，促进细胞凋亡^[35]，并且均为 PI3K-Akt 信号通路的下游通路，为本研究富集靶标。

在采用网路药理学揭示中药复方作用机制的同时，也可通过分析靶标来找到新适应症，阐释组方原理，为相关新药开发提供新思路^[36]。但网络药理学在中药研究中仍有许多欠缺，首先中医药相关数据不足，同时数据本身又有着药材质量不可控等许多问题，而不断累积可靠的数据资源是网络药理学研究的基础^[37]；其次是还需完善理论算法，在更完善的理论依据下利用各层次实验数据，从而得到更准确的结果。

参考文献：

[1] Chen Z, Fillmore C M, Hammerman P S, et al. Non-small-cell lung cancers: a heterogeneous set of diseases [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(8) : 535-546.
[2] 刘嘉湘. 金复康口服液治疗肺癌的研究 [C] // 首届国际中西医结合肿瘤研究论坛论文专辑 (2008). 上海: 上海市中西医结合学会, 中国中西医结合学会, 2008: 4.

[3] 刘嘉湘, 潘敏求, 黎月恒, 等. 金复康口服液治疗原发性非小细胞肺癌临床研究[J]. 肿瘤, 2001, 21(6): 463-465.

[4] 郑婷婷, 杨 铭, 阙祖俊, 等. 基于随机森林回归模型的中药复方金复康对肺癌细胞增殖作用的组方优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(4): 177-182.

[5] Hao D C, Xiao P G. Network pharmacology: a Rosetta Stone for traditional Chinese medicine[J]. *Drug Dev Res*, 2014, 75(5): 299-312.

[6] Li S. Exploring traditional Chinese medicine by a novel therapeutic concept of network target[J]. *Chin J Integr Med*, 2016, 22(9): 647-652.

[7] 刘 红, 华 强. 中国中医药数据库网上检索系统用户使用情况分析[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(7): 98-99.

[8] Kramer C, Podewitz M, Ertl P, *et al.* Unique macrocycles in the Taiwan traditional Chinese medicine database[J]. *Planta Med*, 2015, 81(6): 459-466.

[9] Xue R, Fang Z, Zhang M, *et al.* TCMID: traditional Chinese medicine integrative database for herb molecular mechanism analysis[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 41(Database issue): D1089-D1095.

[10] Gaulton A, Bellis L J, Bento A P, *et al.* ChEMBL: a large-scale bioactivity database for drug discovery[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(Database issue): D1100-D1107.

[11] Brown G R, Hem V, Katz K S, *et al.* Gene: a gene-centered information resource at NCBI[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 43(Database issue): D36-D42.

[12] Amberger J S, Bocchini C A, Schiettecatte F, *et al.* OMIM.org: online mendelian inheritance in man (omim[®]), an online catalog of human genes and genetic disorders[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 43(Database issue): D789-D798.

[13] Chen X, Ji Z L, Chen Y Z. TTD: therapeutic target database[J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(1): 412-415.

[14] Di L, Kerns E H, Carter G T. Drug-like property concepts in pharmaceutical design[J]. *Curr Pharm Des*, 2009, 15(19): 2184-2194.

[15] Bickerton G R, Paolini G V, Besnard J, *et al.* Quantifying the chemical beauty of drugs[J]. *Nat Chem*, 2012, 4(2): 90-98.

[16] Yang M, Chen J, Xu L, *et al.* A novel adaptive ensemble classification framework for ADME prediction[J]. *RSC Advances*, 2018, 8(21): 11661-11683.

[17] Liang X, Li H, Li S. A novel network pharmacology approach to analyse traditional herbal formulae: the Liu-Wei-Di-Huang pill as a case study[J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(5): 1014-1022.

[18] Schaefer M H, Fontaine J F, Vinayagam A, *et al.* HIPPIE: integrating protein interaction networks with experiment based quality scores[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31826.

[19] Zhu F, Han B C, Kumar P, *et al.* Update of TTD: therapeutic target database[J]. *Nucleic acids research*, 2010, 38(Database issue): D787-D791.

[20] Gu J, Chen Y, Li S, *et al.* Identification of responsive gene modules by network-based gene clustering and extending: application to inflammation and angiogenesis[J]. *BMC Syst Biol*, 2010, 4: 47.

[21] Kong X, Zhou W, Wan J B, *et al.* An integrative thrombosis network: visualization and topological analysis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 265303.

[22] Tanabe M, Kanehisa M. Using the KEGG database resource [J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2012, 38(1): 1.12.1-1.12.43.

[23] Ashburner M, Ball C A, Blake J A, *et al.* Gene ontology: tool for the unification of biology. the gene ontology consortium[J]. *Nat Genet*, 2000, 25(1): 25-29.

[24] Fan D P, Zhang Y M, Hu X C, *et al.* Activation of AKT/ERK confers non-small cell lung cancer cells resistance to vinorelbine[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(1): 134-143.

[25] Fumarola C, Bonelli M A, Petronini P G, *et al.* Targeting PI3K/AKT/mTOR pathway in non small cell lung cancer[J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 90(3): 197-207.

[26] Heavey S, O' Byrne K J, Gately K. Strategies for co-targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in non small cell lung carcinoma[J]. *Cancer Treat Rev*, 2014, 40(3): 445-456.

[27] Yip P Y. Phosphatidylinositol 3-kinase-AKT-mammalian target of rapamycin (PI3K-Akt-mTOR) signaling pathway in non-small cell lung cancer[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2015, 4(2): 165-176.

[28] 黄 宁, 李文佳, 安利国, 等. FoxO1 的功能及其与人类疾病的关系[J]. 生命科学, 2012, 24(4): 334-339.

[29] Asgarova A, Asgarov K, Godet Y, *et al.* PD-L1 expression is regulated by both DNA methylation and NF- κ B during EMT signaling in non-small cell lung carcinoma[J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(5): e1423170.

[30] 谢欣怡, 鲍红光, 张 勇. 塞来昔布抑制非小细胞肺癌作用机制的研究进展[J]. 临床麻醉学杂志, 2014, 30(5): 516-519.

[31] 蒋义鑫, 徐 元, 周之毅, 等. 金复康口服液诱导肺癌细胞 A549 凋亡的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(9): 160-165.

[32] 王志超, 曾进龙, 张海良, 等. 金复康对晚期非小细胞肺癌患者肿瘤生长转移和血管内皮生成因子的影响[J]. 实用医院临床杂志, 2011, 8(4): 148-149.

[33] 韩明权, 刘嘉湘, 高 虹, 等. 益肺抗癌饮对实验性肺癌细胞周期及核酸和蛋白质合成的影响[J]. 中西医结合学报, 2003, 1(3): 205-208.

[34] 孙建立, 刘嘉湘. 金复康口服液对裸鼠人肺腺癌细胞凋亡相关基因表达的影响[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(10): 69-71.

[35] 阙祖俊, 罗 斌, 钱芳芳, 等. 金复康通过 p16/RB 信号通路诱导肺癌循环肿瘤细胞衰老[J]. 肿瘤, 2018, 38(3): 215-221.

[36] Yang M, Chen J L, Xu L W, *et al.* Navigating traditional Chinese medicine network pharmacology and computational tools [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 731969.

[37] 张彦琼, 李 梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6): 883-892.