

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<sup>1,2</sup>, 陈 腾<sup>1,3</sup>, 秦凤凤<sup>4</sup>, 陈 超<sup>1,3</sup>, 李五生<sup>2</sup>, 王 杰<sup>1,3\*</sup>  
(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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2]</sup>。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<sup>[3]</sup>。

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<sup>[4]</sup>, 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<sup>[5]</sup>。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<sup>[6]</sup>。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>

对接的方法，研究华蟾素治疗胃癌的分子机制和物质基础，为临床应用华蟾素辅助治疗胃癌提供理论参考。

1 资料与方法

1.1 华蟾素成分筛选及预测靶点获取 检索 PubMed、CNKI、万方、VIP 数据库得到华蟾素抗肿瘤的主要物质，检索 PubChem 数据库 (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) 获取华蟾素成分的分子结构及 Canonical SMILES 号，通过 SwissTargetPrediction (<http://swisstargetprediction.ch/>)、PharmMapper (<http://lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)、TargetNet (<http://targetnet.scbdd.com/homeer>) 网站预测华蟾素成分靶点，采用 UniProt Knowledgebase (UniProtKB, <http://www.uniprot.org/>) 校正后，以 SwissTargetPrediction Prob  $\geq 0.10$ 、TargetNet Prob  $\geq 0.60$  或 PharmMapper Fit $\geq 0.60$  为条件筛选预测靶点。

1.2 胃癌疾病基因获取 以“gastric cancer”为关键词，种属限定为“*Homo sapiens*”，搜索治疗目标数据库 (TTD, <http://bidd.nus.edu.sg/group/ttd/ttd>)、在线孟德尔人类遗传数据库 (OMIM, <http://www.omim.org/>)、DisGeNET 数据库 (<http://www.disgenet.org/>)、GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)，以 GeneCards 得分 $\geq 10$ 分、DisGeNET $\geq 0.10$ 为筛选条件，删除重复基因，得到胃癌疾病基因。

1.3 药物-疾病共同靶点及其蛋白相互作用网络构建 通过 R 软件将华蟾素主要成分的预测靶点与胃癌疾病基因取交集，得到药物-疾病共同靶点。通过 String 平台构建药物-疾病共同靶点的蛋白相互作用 (PPI) 网络，将蛋白种类设置为“*Homo sapiens*”，最低相互作用阈值设为中等“medium confidence” (0.4)，其他为默认设置。然后下载 tsv 格式文件，导入 Cytoscape 3.7.2 软件，并根据网络节点度值来评价主要靶点，每个节点代表 1 个基因，度值与节点相连节点的数量相关，度值越大，节点在网络中越重要。

1.4 华蟾素-胃癌共同靶点生物功能和通路分析 采用 ClusterProfiler R 软件对华蟾素-胃癌共同靶点进行基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 的通路富集分析。

1.5 药物-靶点-疾病相互作用网络构建 将华蟾素与胃癌共同靶点 PPI 的 tsv 格式文件导入 Cytoscape 软件中，构建药物-靶点-疾病可视化的网络模型，网络中的节点代表药物成分、疾病靶基因，通过度值筛选华蟾素治疗胃癌的关键成分和靶点。

1.6 关键靶点与胃癌预后的相关性 通过 Kaplan-Meier 在线网站 (<http://kmplot.com/analysis/>) 选择胃腺癌数据库，输入筛选出的关键靶点，得到与胃癌总体生存期相关的风险比 (HR) 和 log rank 检验的 *P* 值，*P*<0.05 表示该靶点与胃癌的临床预后风险密切相关。

1.7 华蟾素主要成分与关键靶点分子对接 从 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中下载配体化合物的 3D 结构并转换格式，从 PDB 数据库

(<https://www.rcsb.org/>) 中下载受体蛋白 3D 结构，采用 Pymol 软件对蛋白质进行去水、加氢等操作，Auto Dock 软件将化合物及靶蛋转换为 \*pdbqt 格式，Vina 软件进行分子对接，Pymol 软件分析配体和受体的相互作用。

1.8 核心靶点与胃癌临床预后风险的单因素、多因素 Cox 回归分析 通过网络药理学、分子对接、临床预后数据库结果筛选出核心基因靶点，通过 R 语言中的 survival 包在 TCGA、GEO (GSE15459) 胃癌数据库中进行单因素 Cox 回归分析，在 TCGA 数据库中将筛选出的核心基因靶点通过 R 语言中的 survival 包进行多因素 Cox 回归分析，构建预后风险评分模型，以评价核心靶点与胃癌临床风险预后的关系。再计算风险评分，公式为风险评分=基因 1 表达量 $\times$ 多因素 Cox 回归系 1+...+基因 *N* 表达量 $\times$ 多因素 Cox 回归系数 *N* (其中 *N* 代表基因数)，计算每例患者的风险评分，通过 survival 包中的 surv\_ cutpoint 函数计算 cutoff 值，将患者划分为高风险组和低风险组，采用 R 语言中的 survminer 包绘制 Kaplan-Meier (KM) 生存曲线，计算 2 组患者的生存率以评价模型性能。

2 结果

2.1 华蟾素主要成分及其预测靶点 参考文献 [7-8] 报道，蟾毒内酯类、吲哚生物碱类为华蟾素抗肿瘤的主要活性成分，将这 2 类成分所含的化合物通过检索 PubChem 数据库得到含有分子结构的化合物 28 个，其中蟾毒内酯类有 20 个，分别为华蟾毒它灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基、远华蟾蜍精、日蟾蜍他灵、沙蟾毒精、蟾毒灵、蟾蜍他灵、伪异沙蟾毒精、resibufaginol、脂蟾蜍精、去乙酰华蟾蜍精、华蟾蜍毒醇、去乙酰华蟾毒它灵、蟾毒它灵宁、海蟾蜍精、19-羟基蟾毒灵、噻根草醇、蟾蜍它里定、伪异沙蟾毒精；吲哚生物碱类有 8 个，分别为蟾蜍疏堇、蟾蜍特尼定、蟾毒色胺、五羟色胺、脱氢蟾蜍色胺、*N*-乙酰羟色胺、5-羟基吲哚-3-甲醛、蟾蜍色胺 C，具体见表 1。按筛选条件将各数据库预测靶点汇总，去重后得到 484 个华蟾素主要成分的预测靶点。

2.2 胃癌疾病靶点 按筛选条件，得到各数据库靶点为 TTD 数据库 41 个、OMIM 数据库 484 个、DisGeNET 数据库 290 个、GeneCards 数据库 311 个，删除重复基因后得到胃癌疾病基因 981 个。

2.3 药物-疾病共同靶点及其 PPI 网络 将华蟾素主要成分的预测靶点与胃癌疾病基因取交集，得到两者共同靶点 70 个。通过 String 平台和 Cytoscape 3.7.2 软件得到 70 个药物-疾病共同靶点的 PPI 网络图，见图 1~2。PPI 网络图中，SRC (度值 50)、CTNNB1 (度值 48)、MAPK1 (度值 47)、MAPK3 (度值 47)、STAT3 (度值 46)、EGFR (度值 44)、ALB (度值 43)、MTOR (度值 42)、ESR1 (度值 41)、IL6 (度值 40) 是度值靠前的节点，可能为华蟾素治疗胃癌的主要靶点。

2.4 华蟾素-胃癌共同靶点 GO 生物功能分析 华蟾素治疗胃癌的靶点影响了 1 399 个生物学过程、75 个分子功能，

表 1 华蟾素主要成分信息

| 分类     | 序号 | 名称            | PubChem ID 号 | CAS 号      | 相对分子质量  | 分子式                                                                          |
|--------|----|---------------|--------------|------------|---------|------------------------------------------------------------------------------|
| 蟾毒内酯类  | 1  | 华蟾毒它灵         | 259776       | 1108-68-5  | 458. 50 | C <sub>26</sub> H <sub>34</sub> O <sub>7</sub>                               |
|        | 2  | 华蟾酥毒基         | 11969542     | 470-37-1   | 442. 50 | C <sub>26</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub>                               |
|        | 3  | 酯蟾毒配基         | 6917974      | 465-39-4   | 384. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>                               |
|        | 4  | 远华蟾蜍精         | 259991       | 472-26-4   | 402. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>                               |
|        | 5  | 日蟾蜍他灵         | 259803       | 465-11-2   | 402. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>                               |
|        | 6  | 沙蟾毒精          | 12305198     | 464-74-4   | 416. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>                               |
|        | 7  | 蟾毒灵           | 9547215      | 465-21-4   | 386. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>                               |
|        | 8  | 蟾蜍他灵          | 12302120     | 471-95-4   | 444. 60 | C <sub>26</sub> H <sub>36</sub> O <sub>6</sub>                               |
|        | 9  | 伪异沙蟾毒精        | 167607       | 17008-65-0 | 416. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>                               |
|        | 10 | resibufaginol | 561687       | —          | 400. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>                               |
|        | 11 | 脂蟾蜍精          | 11969466     | 20987-24-0 | 398. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>                               |
|        | 12 | 去乙酰华蟾蜍精       | 11877495     | 4026-95-3  | 400. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>                               |
|        | 13 | 华蟾蜍毒醇         | 12303266     | 6691-83-4  | 458. 50 | C <sub>26</sub> H <sub>34</sub> O <sub>7</sub>                               |
|        | 14 | 去乙酰华蟾毒它灵      | 15513544     | 4099-30-3  | 416. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>                               |
|        | 15 | 蟾毒它灵宁         | 11225        | 562-21-0   | 414. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>                               |
|        | 16 | 海蟾蜍精          | 11969465     | 470-42-8   | 400. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>                               |
|        | 17 | 19-羟基蟾毒灵      | 101375811    | 39844-86-5 | 402. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>                               |
|        | 18 | 噻根草醇          | 10432170     | 508-79-2   | 418. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub>                               |
|        | 19 | 蟾蜍它里定         | 259577       | 465-90-7   | 416. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>                               |
|        | 20 | 伪异沙蟾毒精        | 204810       | 17008-69-4 | 416. 50 | C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>                               |
| 吡啶生物碱类 | 1  | 蟾蜍硫堇          | 5315536      | —          | 267. 33 | C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S <sup>+</sup> |
|        | 2  | 蟾蜍特尼定         | 3083591      | 487-91-2   | 218. 29 | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O                             |
|        | 3  | 蟾毒色胺          | 10257        | —          | 204. 27 | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O                             |
|        | 4  | 五羟色胺          | 5202         | 50-67-9    | 176. 21 | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O                             |
|        | 5  | 脱氢蟾蜍色胺        | 205042       | 17232-69-8 | 203. 26 | C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sup>+</sup>                |
|        | 6  | N-乙酰羟色胺       | 903          | 1210-83-9  | 218. 25 | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                |
|        | 7  | 5-羟基吡啶-3-甲醛   | 5324534      | 3414-19-5  | 161. 16 | C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>                                |
|        | 8  | 蟾蜍色胺 C        | 101460862    | —          | 325. 40 | C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>                |

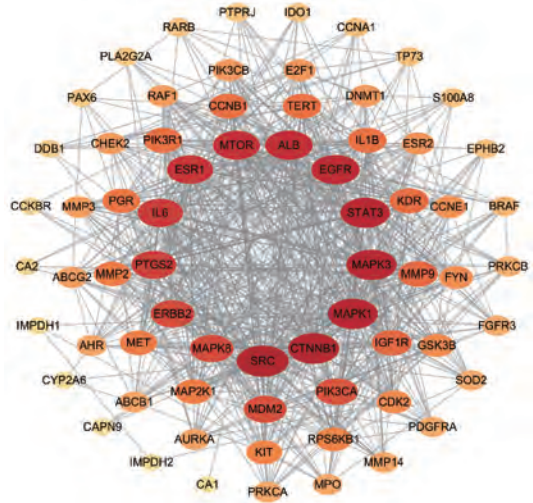


图 1 华蟾素与胃癌共同靶点 PPI 网络

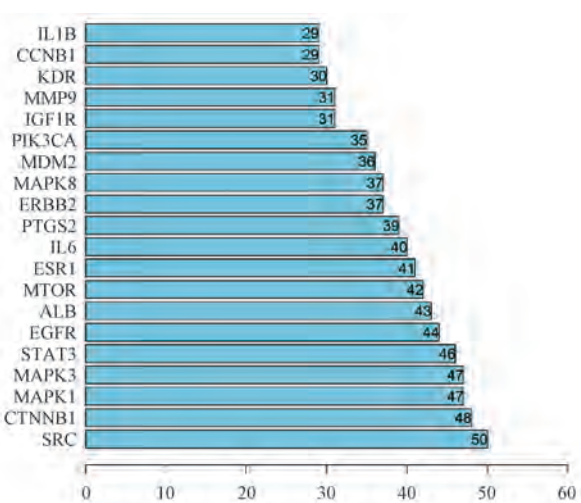


图 2 华蟾素与胃癌共同靶点（排名前 20 位）

生物过程主要包括肽基丝氨酸磷酸化、肽基丝氨酸修饰、对氧化应激的反应、蛋白激酶 B 信号传导、细胞对氧化应激的反应、肽基酪氨酸磷酸化、肽基酪氨酸修饰、对活性氧的反应等，分子功能主要包括蛋白质酪氨酸激酶活性、跨膜受体蛋白酪氨酸激酶活性、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性、跨膜受体蛋白激酶活性、组蛋白激酶活性、核受体活性等。排名前二十的生物过程、分子功能富集结果见

图 3~4。

2.5 华蟾素-胃癌共同靶点的 KEGG 通路富集分析 共得到 145 条信号通路，*P* 值排名前 20 位的见图 5，主要包括 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药、前列腺癌、内分泌抵抗、癌症中的蛋白聚糖、胃癌、ErbB 信号通路、乳腺癌、神经胶质细胞瘤等。

2.6 构建药物-靶点-疾病相互作用网络 由图 6 可知，华



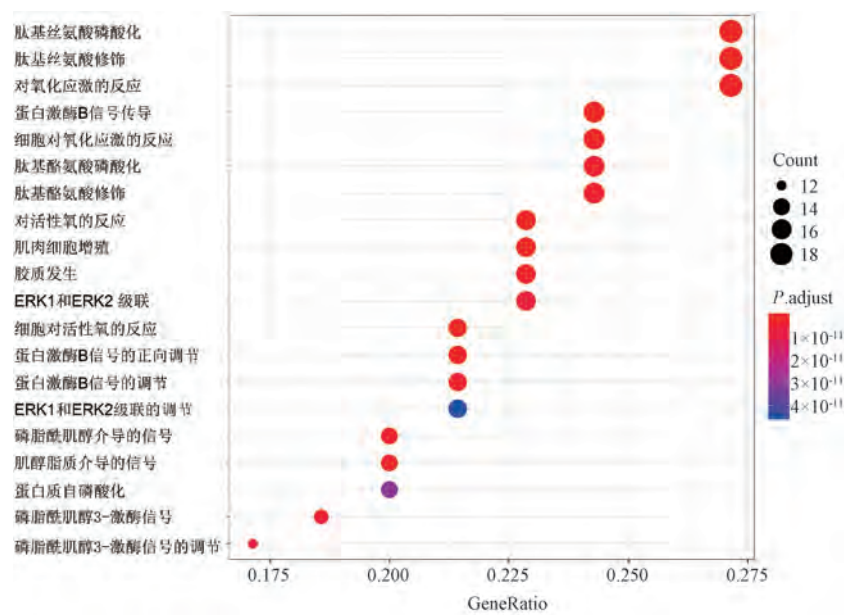


图 3 华蟾素与胃癌共同靶蛋白涉及的生物过程 GO 富集分析

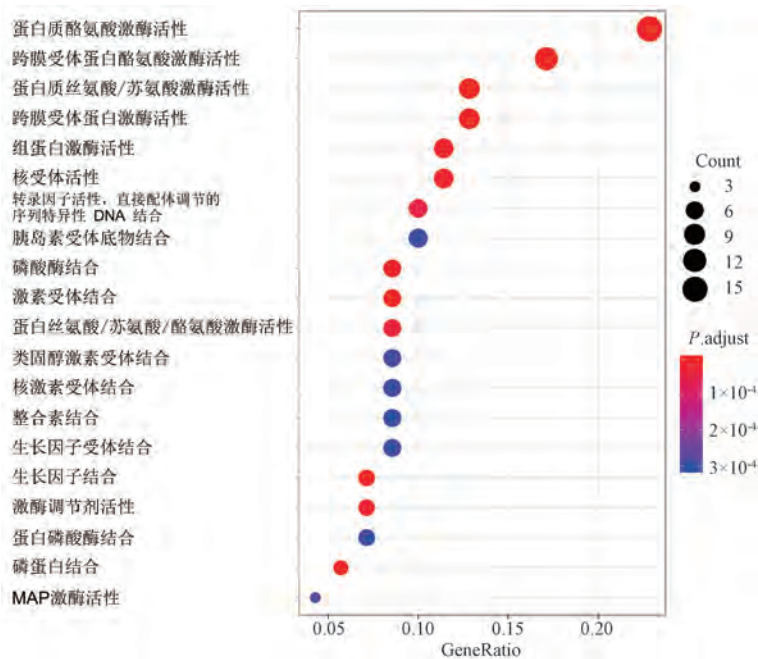


图 4 华蟾素与胃癌共同靶蛋白涉及的分子功能 GO 富集分析

蟾素治疗胃癌的主要化合物是华蟾毒它灵（度值 15）、蟾毒它灵（度值 12）、华蟾酥毒基（度值 8）、蟾蜍色胺 C（度值 8）、蟾毒灵（度值 6），关键靶点有 SRC（度值 51）、CTNNB1（度值 49）、MAPK1（度值 48）、MAPK3（度值 48）、STAT3（度值 47）、EGFR（度值 45）、ALB（度值 44）、ESR1（度值 43）、MTOR（度值 42）、IL6（度值 41）。

2.7 关键靶点与胃癌预后的相关性 结果见表 2、图 7A~7B，可知 SRC、CTNNB1、MAPK1、MAPK3、EGFR、ALB、ESR1 的 log rank 检验  $P<0.05$ ，表明这些靶点与胃癌总体生存期存在明显相关性，也与胃癌的临床预后风险密切相关。

表 2 关键靶点与胃癌总体生存期的相关性

| 关键靶点   | 风险比值(范围)            | P 值                    |
|--------|---------------------|------------------------|
| SRC    | 1. 57 (1. 30~1. 89) | 2. 3×10 <sup>-6</sup>  |
| CTNNB1 | 0. 47 (0. 38~0. 57) | 5. 1×10 <sup>-15</sup> |
| MAPK1  | 0. 69 (0. 54~0. 87) | 0. 001 9               |
| MAPK3  | 1. 58 (1. 54~1. 88) | 1. 2×10 <sup>-7</sup>  |
| STAT3  | 0. 80 (0. 62~1. 03) | 0. 08                  |
| EGFR   | 1. 35 (1. 08~1. 70) | 0. 009 2               |
| ALB    | 1. 28 (1. 08~1. 52) | 0. 005 1               |
| MTOR   | 1. 13 (0. 94~1. 37) | 0. 19                  |
| ESR1   | 1. 64 (1. 34~2. 01) | 1. 1×10 <sup>-6</sup>  |
| IL6    | 1. 10 (0. 91~1. 32) | 0. 32                  |

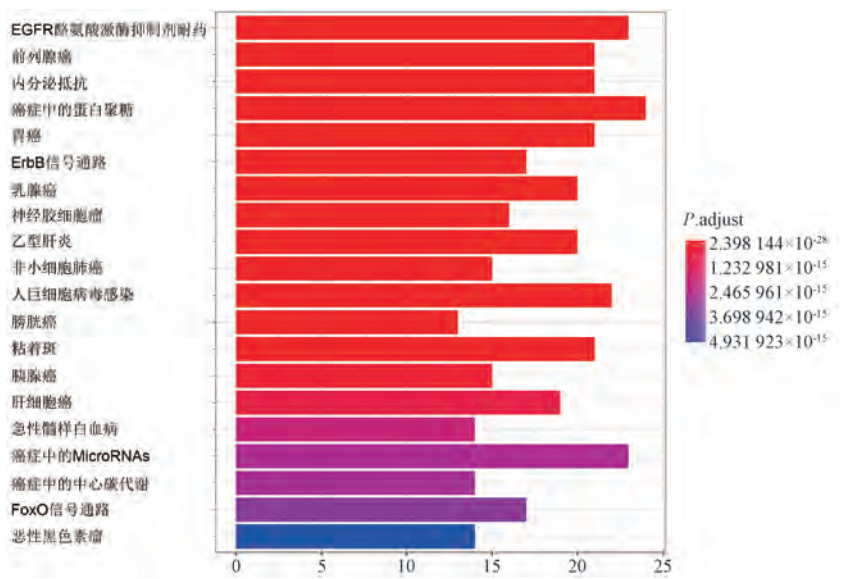


图 5 华蟾素与胃癌共同靶蛋白 KEGG 富集分析（排名前 20 位）

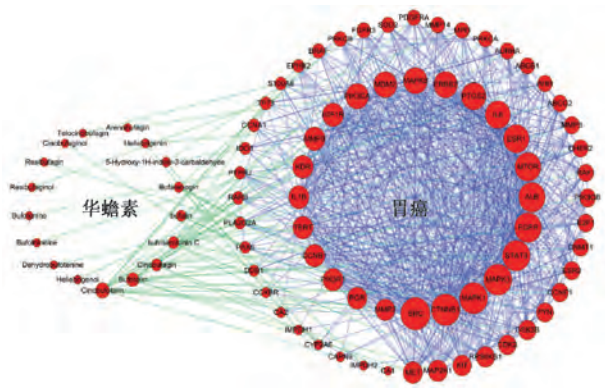


图 6 华蟾素-靶点-胃癌相互作用网络图

2.8 华蟾素主要成分与关键靶点的分子对接 分子对接结合能小于 0，表示配体与受体可自发结合，并且当结合能≤-5.0 kJ/mol 时，小分子配体与受体结合较好<sup>[9]</sup>。将华蟾素主要成分分别与 SRC、CTNNB1、MAPK1、MAPK3、STAT3、EGFR、ALB、MTOR、ESR1、IL6 进行分子对接，发现其结合能大多小于等于-5.0 kJ/mol，见图 7C~7D、图 8，说明华蟾素主要成分与胃癌关键靶点间有较好的结合活性，其中所有关键靶点与华蟾素主要成分 resibufaginol（-112.4 kJ/mol）、华蟾毒素基（-81.9 kJ/mol）、伪异沙蟾毒精（-79.9 kJ/mol）、沙蟾毒精（-79.7 kJ/mol）、华蟾毒素醇（-79.3 kJ/mol）结合能较好，华蟾素主要与关键靶点 EGFR（-143.0 kJ/mol）、MTOR（-139.8 kJ/mol）、MAPK3（-139.3 kJ/mol）、ALB（-137.9 kJ/mol）、STAT3（-136.3 kJ/mol）结合能较好，表明这些靶点与华蟾素的主要成分更容易结合。结合“2.7”项下结果可知，这些靶点中 EGFR、MAPK3、ALB 与胃癌预后密切相关，推测三者可能是华蟾素治疗胃癌的核心靶点。

2.9 核心靶点与胃癌临床预后风险的单因素、多因素 Cox 回归分析 对筛选出的 3 个核心基因靶点（EGFR、

MAPK3、ALB）进行单因素 Cox 回归分析，发现在 TCGA 数据库中核心靶点 EGFR、ALB 与胃癌临床预后风险有关，在 GEO 数据库中核心靶点 MAPK3 与胃癌临床预后风险有关，具体见表 3。在 TCGA 数据库中对 3 个核心基因靶点进行多因素 Cox 回归分析，得到胃癌预后风险评分模型，计算风险评分，公式为风险评分 = EGFR 表达值×0.153 + MAPK3 表达值×（-0.067 2）+ALB 表达值×0.09，对每例胃癌患者进行风险评分，通过 surv\_cutpoint 函数计算出 cutoff 值为 0.285 197 9，并据此分为高风险组（96 例）和低风险组（292 例）。KM 分析结果显示，与低风险组比较，高风险组患者总体生存率更低（*P*<0.01），表明华蟾素治疗胃癌的 3 个核心靶点与胃癌临床预后密切相关，见图 9。

表 3 核心靶点与胃癌临床预后风险的单因素 Cox 回归分析

| 数据库  | 基因    | 风险比值(范围)         | <i>P</i> 值 |
|------|-------|------------------|------------|
| TCGA | EGFR  | 1.14 (1.02~1.27) | 0.025 7    |
|      | ALB   | 1.07 (0.99~1.16) | 0.049 6    |
|      | MAPK3 | 1.00 (0.80~1.25) | 0.992 5    |
| GEO  | EGFR  | 1.29 (0.99~1.67) | 0.058 1    |
|      | ALB   | 1.00 (0.90~1.11) | 0.967 1    |
|      | MAPK3 | 0.74 (0.55~0.99) | 0.041 2    |

3 讨论

中医药在肿瘤防治中的作用越来越引起人们的重视，但由于中医药成分的复杂性和作用机制的不确定性，阻碍了中医药在肿瘤疾病中的广泛应用<sup>[10]</sup>。网络药理学从整体的角度阐明中医药的作用机制和作用成分，有利于中医药的现代化研究<sup>[11]</sup>。胃癌属中医“噎膈”“胃返”“积聚”等范畴，病机以正虚为本、癌毒为标，而癌毒蕴结于胃是其发病的关键，癌毒不除，疾病难愈<sup>[12]</sup>。《金匱要略心典》曰：“毒者，邪气蕴蓄不解之谓”，因此癌毒致病，法当解毒。而华蟾素具有解毒、消肿、止痛之功，在胃癌的辅助治疗中具有良好的疗效。



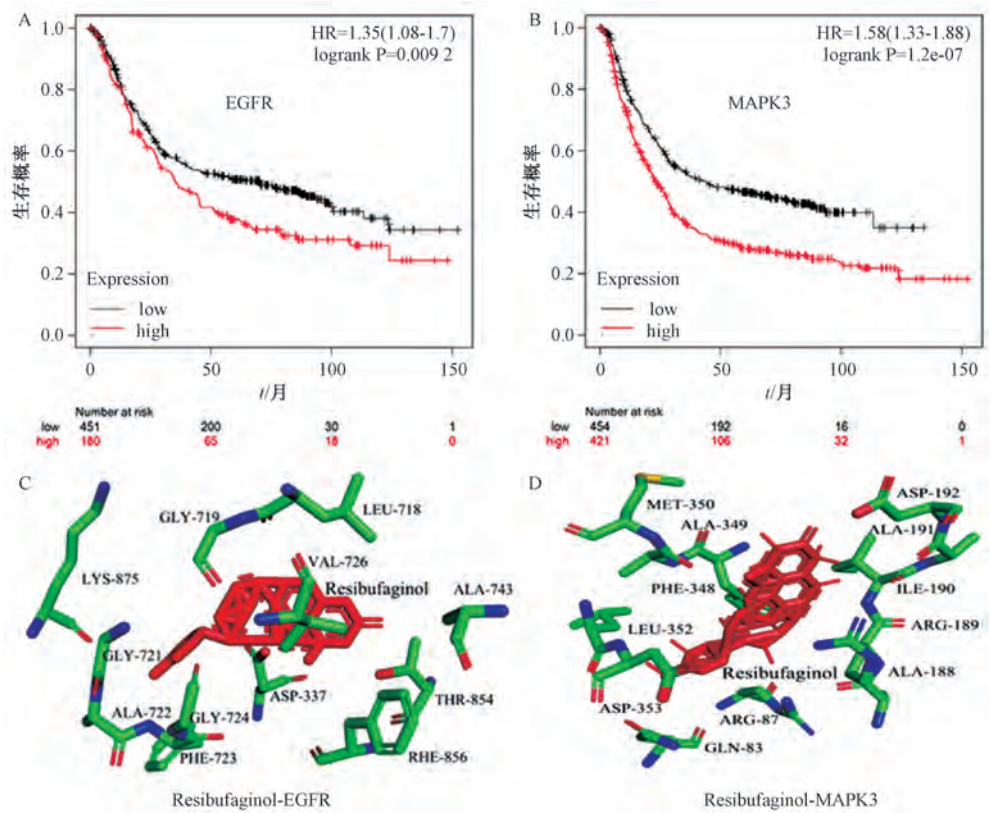


图 7 部分核心靶点与胃癌预后的相关性以及与 resibufaginol 的分子对接图

|               | SRC    | CTNNB1 | MAPK3  | MAPK1  | STAT3  | EGFR   | ALB    | MTOR   | ESR1   | IL6    | 合计     |
|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 华蟾毒它灵         | -6.8   | -7.4   | -8.7   | -6.9   | -8.7   | -8.7   | -8.6   | -8.1   | -6.9   | -6.6   | -77.4  |
| 蟾毒它灵宁         | -7.3   | -8.1   | -8.2   | -6.9   | -8.4   | -8.7   | -8.3   | -8.2   | -6.3   | -6.2   | -76.6  |
| 华蟾酥毒基         | -7.0   | -8.0   | -9.2   | -7.9   | -8.4   | -9.2   | -8.5   | -9.4   | -7.0   | -7.3   | -81.9  |
| 蟾蜍色胺 C        | -7.2   | -6.4   | -8.9   | -7.0   | -7.1   | -9.1   | -9.1   | -7.7   | -6.3   | -6.6   | -73.4  |
| 蟾毒灵           | -7.4   | -7.2   | -8.4   | -7.2   | -8.4   | -9.5   | -8.0   | -8.5   | -6.9   | -6.5   | -78.0  |
| 伪异沙蟾毒精        | -7.5   | -7.4   | -8.9   | -7.8   | -9.2   | -8.6   | -8.1   | -8.6   | -7.2   | -6.6   | -79.9  |
| 5-羟基吲哚-3-甲醛   | -6.1   | -5.7   | -6.7   | -6.1   | -5.8   | -6.0   | -6.0   | -6.3   | -5.2   | -5.6   | -59.5  |
| 蟾蜍它里定         | -7.0   | -6.9   | -8.1   | -7.3   | -8.1   | -8.1   | -8.0   | -8.2   | -6.7   | -6.6   | -75.0  |
| 沙蟾毒精          | -8.0   | -7.5   | -8.3   | -7.4   | -8.1   | -9.9   | -8.1   | -8.8   | -6.8   | -6.8   | -79.7  |
| 远华蟾蜍精         | -8.0   | -7.4   | -8.1   | -6.9   | -8.3   | -9.3   | -8.7   | -8.0   | -6.7   | -6.9   | -78.3  |
| 华蟾酥毒醇         | -6.9   | -7.5   | -9.3   | -7.3   | -8.4   | -8.6   | -8.4   | -9.3   | -6.8   | -6.8   | -79.3  |
| 脂蟾蜍精          | -7.5   | -7.8   | -8.2   | -7.8   | -8.6   | -8.3   | -7.9   | -8.2   | -6.7   | -6.9   | -77.9  |
| Resibufaginol | -11.5  | -11.1  | -11.6  | -10.9  | -11.0  | -12.4  | -12.2  | -12.9  | -9.6   | -9.2   | -112.4 |
| 蟾毒色胺          | -6.4   | -6.0   | -6.4   | -6.3   | -6.4   | -6.4   | -6.7   | -6.6   | -4.9   | -5.3   | -61.4  |
| 蟾蜍硫甙          | -6.6   | -6.0   | -6.4   | -5.7   | -6.9   | -6.6   | -6.7   | -6.7   | -5.3   | -5.1   | -62.0  |
| 脱氢蟾蜍色胺        | -6.9   | -6.3   | -5.8   | -5.5   | -6.4   | -6.7   | -6.5   | -6.6   | -5.4   | -5.7   | -61.8  |
| 噻根草醇          | -7.5   | -6.9   | -7.9   | -7.0   | -8.1   | -8.9   | -8.1   | -7.7   | -6.8   | -6.6   | -75.5  |
| 合计            | -125.6 | -123.6 | -139.3 | -121.9 | -136.3 | -143.0 | -137.9 | -139.8 | -111.5 | -111.3 |        |

图 8 华蟾素主要成分与关键靶点的分子对接热图

本研究显示，华蟾毒它灵、蟾毒它灵、华蟾酥毒基、蟾蜍色胺 C、蟾毒灵是华蟾素治疗胃癌的关键成分，除蟾蜍色胺 C 外都是华蟾素的主要成分之一，这些关键成分在多种肿瘤的治疗中显示多重作用。研究表明，华蟾毒它灵增加耐药肿瘤细胞对顺铂的敏感性<sup>[13]</sup>。蟾毒它灵能促进黑色素瘤<sup>[14]</sup>和食道癌<sup>[15]</sup>细胞的凋亡，抑制肿瘤的增殖。华蟾素主要成分的华蟾酥毒基的作用较为广泛，可以通过抑制自噬增加胃癌细胞的凋亡<sup>[16]</sup>，对乳腺癌细胞具有抗增殖和促凋亡作用<sup>[17]</sup>，抑制肠癌的血管生成<sup>[18]</sup>、逆转 P-gp 介导的肠癌多药耐药性<sup>[19]</sup>。蟾蜍色胺 C 是一种新型的吲哚类生

物碱，有研究显示它对肺癌 A549 细胞的毒性强于 5-FU<sup>[20]</sup>。蟾毒灵是华蟾素成分中研究最热门的物质，在胃癌中蟾毒灵能通过下调 Wnt/ASCL2 表达来抑制胃癌的侵袭和转移<sup>[21]</sup>，逆转胃癌细胞对顺铂的耐药性<sup>[22]</sup>，抑制保护性自噬发挥抗胃癌作用<sup>[23]</sup>。

本研究筛选出了华蟾素治疗胃癌的核心靶点是 EGFR、MAPK3（又称 ERK1）、ALB，相关文献也证实了筛选结果。另外，华蟾素的关键成分蟾毒灵能通过 EGFR/AKT/ERK 信号通路抑制卵巢癌细胞的增殖<sup>[24]</sup>；蟾毒灵可通过调节胃癌细胞中的 ERK 信号通路来发挥抗癌作用<sup>[23]</sup>；蟾毒灵可通过

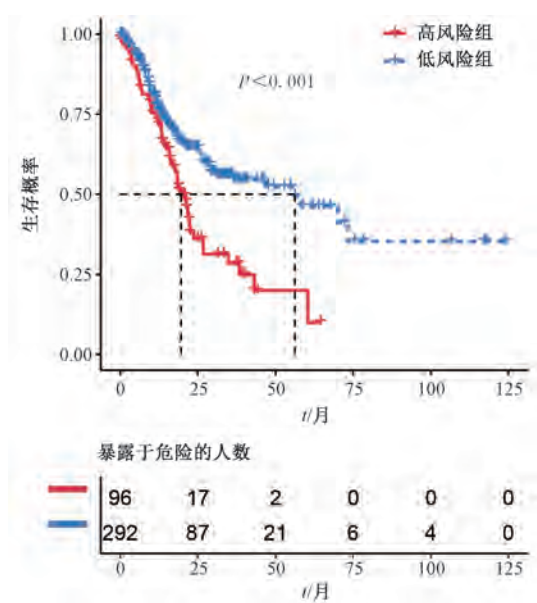


图 9 核心靶点与胃癌临床预后风险的多因素 Cox 回归分析

调节肝癌细胞中 ALB 和 AFP 的表达来逆转细胞的恶性表型并促进其分化和成熟<sup>[25]</sup>。

本研究中华蟾素抗胃癌涉及的 KEGG 核心通路是 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药通路，富集了最多的靶点。在筛选出华蟾素治疗胃癌的关键靶点中，SRC、MAPK1、MAPK3、STAT3、EGFR、mTOR 与核心通路 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药通路相关，华蟾素及其主要成分对核心通路中的这些靶点的作用都有相关研究报道。其有效成分蟾毒灵是 SRC-3 和 SRC-1 的有效小分子抑制剂<sup>[26]</sup>，能够抑制 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药通路的激活；华蟾素可以通过抑制 c-Met/ERK 信号通路的上皮间质转化来阻止肝癌 HepG2 细胞迁移和侵袭<sup>[27]</sup>；华蟾毒素基可通过阻断 IL-6/STAT3 信号通路抑制骨肉瘤细胞的活力和成瘤能力<sup>[28]</sup>；蟾毒灵可通过靶向 mTOR/HIF-α 途径抑制卵巢癌增殖和迁移<sup>[29]</sup>。

综上所述，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，可能通过调控 EGFR、MAPK3、ALB、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药、内分泌抵抗、癌症中的蛋白聚糖等多靶点、多途径发挥对胃癌的治疗作用，以期为进一步的临床或实验研究提供科学依据和研究思路。

参考文献：

[ 1 ] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.

[ 2 ] Chen W Q, Zheng R S, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.

[ 3 ] 许 婉, 刘宁宁, 朱梅萍, 等. 中医药防治胃癌研究进展 [J]. *世界华人消化杂志*, 2019, 27(10): 637-642.

[ 4 ] Zhang X, Yuan Y, Xi Y P, et al. Cinobufacini injection

improves the efficacy of chemotherapy on advanced stage gastric cancer: a systemic review and meta-analysis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 7362340.

[ 5 ] Yuan Z Z, Pan Y Y, Leng T, et al. Progress and prospects of research ideas and methods in the network pharmacology of traditional Chinese medicine [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2022, 25: 218-226.

[ 6 ] Crampon K, Giorkallos A, Deldossi M, et al. Machine-learning methods for ligand-protein molecular docking [J]. *Drug Discov Today*, 2022, 27(1): 151-164.

[ 7 ] Zhan X, Wu H, Wu H, et al. Metabolites from *Bufo gargarizans* (cantor, 1842): a review of traditional uses, pharmacological activity, toxicity and quality control [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 246: 112178.

[ 8 ] Wei W L, Hou J J, Wang X, et al. *Venenum bufonis*: an overview of its traditional use, natural product chemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 237: 215-235.

[ 9 ] Li B J, Rui J Q, Ding X J, et al. Deciphering the multicomponent synergy mechanisms of SiNiSan prescription on irritable bowel syndrome using a bioinformatics/network topology based strategy [J]. *Phytomedicine*, 2019, 63: 152982.

[ 10 ] 张 颖, 邱汉波, 侯恩存, 等. 基于网络药理学-分子对接研究益气逐瘀汤针对胃癌的作用机制 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(23): 3484-3490.

[ 11 ] 王 维, 郭志玲, 赵晓东, 等. 参白颗粒逆转胃低级别上皮内瘤变的网络药理学研究 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(16): 2393-2400; 2407.

[ 12 ] 壮雨雯, 赵智明, 蔡 辉. 浅谈从癌毒论治胃癌 [J]. *天津中医药*, 2019, 36(12): 1181-1183.

[ 13 ] Liu Y Y, Jiang Q P, Liu X, et al. Cinobufotalin powerfully reversed EBV-miR-BART22-induced cisplatin resistance via stimulating MAP2K4 to antagonize non-muscle myosin heavy chain II A/glycogen synthase 3β/β-catenin signaling pathway [J]. *EBioMedicine*, 2019, 48: 386-404.

[ 14 ] Pan Z H, Qu C J, Chen Y, et al. Bufotalin induces cell cycle arrest and cell apoptosis in human malignant melanoma A375 cells [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(4): 2409-2417.

[ 15 ] Lin S H, Lv J H, Peng P L, et al. Bufadienolides induce p53-mediated apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma cells in vitro and in vivo [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(2): 1566-1572.

[ 16 ] Xiong X X, Lu B, Tian Q Z, et al. Inhibition of autophagy enhances cinobufagin-induced apoptosis in gastric cancer [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(1): 492-500.

[ 17 ] Zhu L, Chen Y X, Wei C, et al. Anti-proliferative and pro-apoptotic effects of cinobufagin on human breast cancer MCF-7 cells and its molecular mechanism [J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(4): 493-497.

[ 18 ] Li X W, Chen C H, Dai Y, et al. Cinobufagin suppresses colorectal cancer angiogenesis by disrupting the endothelial mammalian target of rapamycin/hypoxia-inducible factor 1α axis

[J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(5): 1724-1734.

[19] Yuan Z T, Shi X J, Qiu Y Y, *et al.* Reversal of P-gp-mediated multidrug resistance in colon cancer by cinobufagin [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(3): 1815-1825.

[20] Dai Y H, Wang A D, Chen Y L, *et al.* A new indole alkaloid from the traditional Chinese medicine Chansu[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2018, 20(6): 581-585.

[21] Wang J, Cai H, Xia Y, *et al.* Bufalin inhibits gastric cancer invasion and metastasis by down-regulating Wnt/ASCL2 expression[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(34): 23320-23333.

[22] Zhao H Y, Zhao D L, Jin H L, *et al.* Bufalin reverses intrinsic and acquired drug resistance to cisplatin through the AKT signaling pathway in gastric cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(2): 1817-1822.

[23] Qi H Y, Qu X J, Liu J, *et al.* Bufalin induces protective autophagy by Cbl-b regulating mTOR and ERK signaling pathways in gastric cancer cells[J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(1): 33-43.

[24] Dou L, Zou D, Song F R, *et al.* Bufalin suppresses ovarian cancer cell proliferation *via* EGFR pathway [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 135(4): 456-461.

[25] Gai J Q, Sheng X, Qin J M, *et al.* The effect and mechanism of bufalin on regulating hepatocellular carcinoma cell invasion and metastasis *via* Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(1): 338-348.

[26] Wang Y, Lonard D M, Yu Y, *et al.* Bufalin is a potent small-molecule inhibitor of the steroid receptor coactivators SRC-3 and SRC-1[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(5): 1506-1517.

[27] Qi F H, Wang J J, Zhao L, *et al.* Cinobufacini inhibits epithelial-mesenchymal transition of human hepatocellular carcinoma cells through c-Met/ERK signaling pathway [J]. *Biosci Trends*, 2018, 12(3): 291-297.

[28] Zhang C, Ma K, Li W Y. Cinobufagin suppresses the characteristics of osteosarcoma cancer cells by inhibiting the IL-6-OPN-STAT3 pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 4075-4090.

[29] Su S, Dou H T, Wang Z, *et al.* Bufalin inhibits ovarian carcinoma *via* targeting mTOR/HIF- $\alpha$  pathway [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2021, 128(2): 224-233.

中药通过调节铁死亡作用治疗溃疡性结肠炎的用药规律研究

吴 娜<sup>1</sup>, 饶 颖<sup>1</sup>, 周佳林<sup>1</sup>, 李 重<sup>2</sup>, 黄雪云<sup>1</sup>, 谢昌莹<sup>1</sup>, 贺柯庆<sup>1\*</sup>  
(1. 江西中医药大学附属医院, 江西 南昌 330006; 2. 江西省中西医结合医院, 江西 南昌 330006)

**摘要:** **目的** 探讨中药通过调节铁死亡作用治疗溃疡性结肠炎的用药规律。**方法** 基于生物信息学、数据挖掘, 分别在 FerrDb、DisGeNET 数据库下载与铁死亡、溃疡性结肠炎相关基因并进行映射, 采用 STRING 数据库、Cytoscape 软件得出溃疡性结肠炎中与铁死亡发生机制相关的关键基因, Coremine Medical 分析治疗关键基因的中药并进行数据挖掘。**结果** 溃疡性结肠炎中共有 76 个基因与铁死亡发生机制相关, 关键基因为 *TP53*、*IL6*、*HIF1A*、*STAT3*、*ALB*、*EGFR*、*VEGFA*、*SRC*、*HRAS*、*TLR4*, 作用关键基因的中药有丹参、人参、黄芪、黄芩, 从本病病机、药理学方面考虑, 选择黄芩进行后续研究。对 CNKI 数据库进行挖掘, 共筛选出 363 首方剂, 包含 209 味中药, 黄芩、黄连、甘草、白芍、木香为核心中药组。**结论** 本研究分析了中药通过调节铁死亡作用治疗溃疡性结肠炎的用药规律, 可为相关临床治疗及机制探索提供参考。

**关键词:** 中药; 溃疡性结肠炎; 铁死亡; 用药规律; 生物信息学; 数据挖掘

**中图分类号:** R287      **文献标志码:** B      **文章编号:** 1001-1528(2023)10-3482-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.10.056

溃疡性结肠炎是一种病因尚不明确的结肠和直肠慢性非特异性炎症性疾病, 临床常表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便, 具有病程长、易复发、难治愈等特点, 现已被世界卫生组织列为现代社会最难治疗的疾病之一, 目前其发病率在我国呈持续上升趋势<sup>[1-2]</sup>。正常的肠上皮细胞 (IECs) 死亡可维持其功能, 保持其持续更新能力, 维护组织稳态, 而其脱离稳态后会导致肠通透性增加、肠屏障功能障碍, 是导致溃疡性结肠炎发生发展的关键因素<sup>[3]</sup>。铁死亡是近

收稿日期: 2022-03-29

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (82160903); 江西省自然科学基金青年基金项目 (20212BAB216060); 江西省中医药中青年骨干人才 (第四批) 培养计划项目 (赣中医药科教字 [2022] 7 号); 江西省教育厅科学技术研究项目 (GJJ211223); 江西省中医药管理局科技计划重点项目 (2022Z005); 江西省卫生健康委科技计划项目 (202310695)

**作者简介:** 吴 娜 (1989—), 女, 博士, 副教授, 主治中医师, 从事中医药防治炎症性肠病研究。E-mail: wuna0791@163.com

\* **通信作者:** 贺柯庆 (1979—), 男, 硕士, 副主任中医师, 从事中医药防治消化系统疾病研究。E-mail: 645233169@qq.com