

# 基于网络药理学方法探讨扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的作用机制

卢丽莎<sup>1</sup>, 吴雨<sup>1</sup>, 张舟<sup>1</sup>, 王国瑞<sup>1</sup>, 陈佳玥<sup>1</sup>, 朱雄雄<sup>1</sup>, 吴建军<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>甘肃中医药大学公共卫生学院, 甘肃 兰州

<sup>2</sup>敦煌医学与转化省部共建教育部重点实验室, 甘肃 兰州

<sup>3</sup>甘肃省中医药防治慢性疾病重点实验室, 甘肃 兰州

收稿日期: 2022年9月24日; 录用日期: 2022年10月17日; 发布日期: 2022年10月26日

## 摘要

目的: 运用网络药理学方法, 分析扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的作用机制。方法: 通过TCMSP数据库查询扶正抑瘤方中4味药的有效成分及对应的靶点。通过Genecard数据库收集原发性肝癌的相关靶点, 并与药物的靶点进行匹配, 获得交集靶点。将交集靶点导入String数据库中绘制蛋白互作图, 并通过Cytoscape3.8.2对PPI图进行可视化分析, 找出关键靶点。建立Excel表, 利用Cytoscape3.8.2及插件Cytohubba筛选出扶正抑瘤方中主要活性成分。通过R软件对关键靶点进行GO分析和KEGG通路富集分析, 在Cytoscape3.8.2中绘制药物-靶点-疾病-靶点网络图。结果: 共收集到扶正抑瘤方的有效成分14个, 相关的靶点694个, 疾病靶点8803个, 交集靶点184个, 从中筛选出Degree值较高的作为蛋白相互作用中的关键靶点共5个(JUN, IL6, AKT1, CXCL8, CDKN1A)。筛选出度值排列在前3位的活性成分, 依次是槲皮素、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇。经过GO分析得到2457个生物学过程, 经过KEGG富集分析, 得到106条信号通路, 包括AGE-RAGE信号通路、PI3K-ART信号通路、MAPK信号通路、IL-17信号通路、TNF信号通路等。讨论: 扶正抑瘤方治疗原发性肝癌具有多成分、多靶点, 多途径的特点, 筛选的关键靶点和主要通路为阐明治疗原发性肝癌的作用机制提供了科学依据。

## 关键词

扶正抑瘤方, 原发性肝癌, 网络药理学

## To Explore the Mechanism of Fuzheng Anti-Tumor Prescription in the Treatment of Primary Hepatocellular Carcinoma Based on Network Pharmacology Methods

Lisha Lu<sup>1</sup>, Yu Wu<sup>1</sup>, Zhou Zhang<sup>1</sup>, Guorui Wang<sup>1</sup>, Jiayue Chen<sup>1</sup>, Xiongxiang Zhu<sup>1</sup>, Jianjun Wu<sup>1,2,3\*</sup>

\*通讯作者。

文章引用: 卢丽莎, 吴雨, 张舟, 王国瑞, 陈佳玥, 朱雄雄, 吴建军. 基于网络药理学方法探讨扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的作用机制[J]. 临床医学进展, 2022, 12(10): 9635-9647. DOI: 10.12677/acm.2022.12101393

<sup>1</sup>School of Public Health, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou Gansu

<sup>2</sup>Gansu Province & Ministry of Education Co-Founded Key Laboratory for Dunhuang Medicine and Transformation, Lanzhou Gansu

<sup>3</sup>Gansu Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine for Prevention and Control of Chronic Diseases, Lanzhou Gansu

Received: Sep. 24<sup>th</sup>, 2022; accepted: Oct. 17<sup>th</sup>, 2022; published: Oct. 26<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

**Objective:** To analyze the mechanism of Fuzheng anti-tumor prescription in the treatment of primary hepatocellular carcinoma by network pharmacology method. **Methods:** The active components and corresponding targets of four drugs in Fuzheng anti-tumor prescription were queried through TCMSD database. Related targets of primary liver cancer were collected from Genecard database and matched with drug targets to obtain intersection targets. The intersection targets were imported into the String database to draw the protein interaction map, and the PPI map was visualized and analyzed by Cytoscape3.8.2 to identify the key targets. Build Excel table, Cytoscape3.8.2 and Cytohubba were used to screen out the main active ingredients in Fuzheng anti-tumor prescription. GO analysis and KEGG pathway enrichment analysis of key targets were performed by R software, and drug-target-disease-target network map was drawn in Cytoscape3.8.2. **Results:** A total of 14 active components, 694 related targets, 8803 disease targets, and 184 intersection targets were collected. Among them, 5 key targets (JUN, IL6, AKT1, CXCL8, CDKN1A) with higher degree were selected as the key targets in protein interaction. The top 3 active ingredients were quercetin, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol. After GO analysis, 2457 biological processes were obtained, and after KEGG enrichment analysis, 106 signaling pathways were obtained, including AGE-RAGE signaling pathway, PI3K-ART signaling pathway, MAPK signaling pathway, IL-17 signaling pathway, TNF signaling pathway, etc. **Conclusion:** Fuzheng anti-tumor prescription has the characteristics of multi-component, multi-target and multi-pathway in the treatment of primary liver cancer. The key targets and main pathways screened provide a scientific basis for elucidating the mechanism of action in the treatment of primary liver cancer.

## Keywords

Fuzheng Anti-Tumor Prescription, Primary Liver Cancer, Network Pharmacology

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

原发性肝癌是目前我国常见恶性肿瘤之一。原发性肝癌是一种恶性程度极高、预后较差的恶性疾病。世界卫生组织下属国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)最新研究数据显示, 2020年, 中国新发癌症病例数已经超过了世界其他国家, 其中, 肝癌的新发病例数达到了41万, 排在第5位。原发性肝癌发病率居恶性肿瘤第6位, 新增90.6万例, 死亡率居第3位, 仅仅低于肺癌和胃癌, 共计83万例。近5年全球原发性肝癌平均年发病例数为99.5万例, 亚洲73.2万例, 占全球73.6%, 中国42.3万例, 占全球42.5% [1] [2]。原发性肝癌起病隐匿, 危害程度大, 很多人发现肝癌时已经到了中晚期, 而在临床上, 对于中晚期肝癌患者的治疗方式往往只有放疗、化疗和手术等, 预后较差。这些

治疗方式对于疾病的缓解虽然有效，但同时也会使患者产生耐药性，并带来较多的毒副反应，例如降低免疫力，降低生存质量和增加疾病负担等[3] [4]。近年来，中药治疗肝癌开始越来越受到人们的重视。相比西药来说，中药具有毒性小的特点。对于肝癌患者来说，中药可补血填精，促进造血功能的恢复；可益气固本，提高患者的免疫功能；可和胃降逆，减少胃肠反应，提高患者的生存质量[5] [6]。

随着医学的发展，人们对于疾病的治疗思维开始由过去的单一因素作用转变为多种药物、多成分、多靶点以及多种途径共同作用的治疗方式，基于这种思维方式，网络药理学也开始逐渐兴起。而中药中多成分共同作用方式与网络药理学方法契合。相关临床研究表明：扶正抑瘤方对于肝癌的治疗具有有效作用。基于上述研究，本文对于扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的作用机制进行探讨。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 预测扶正抑瘤方的有效化学成分和靶点

中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine System Pharmacological Database and Analysis Platform, TCMSP)是中药网络药理学常用的数据库之一[7]。在 TCMSP 中将“红芪”、“当归”、“莪术”、“墓头回”作为关键词依次输入，查询收集四味药物的成分，由于人体的吸收、代谢和排泄等都会对药物的作用产生一定影响，所以参考药代动力学参数(ADME)，将口服生物利用度(Oralbioavailability, OB)  $\geq 30\%$ 和类药性(Drug-like, DL)  $\geq 0.18$  作为限定条件[8]，筛选出活性较高的化合物即作为扶正抑瘤方的有效成分。在 TCMSP 数据库收集的有效成分界面点击“Related Targets”即可得到扶正抑瘤方有效成分作用的相关靶点，并在 Uniprot 数据库中查找收集药物靶点所对应的基因名称。

### 2.2. 获取疾病的相关靶点

在 Genecards 数据库中，以“primary hepatic carcinoma”作为关键词检索原发性肝癌的作用靶点，删去重复项，得到原发性肝癌相关疾病的靶点基因。

### 2.3. 交集靶点的获取

利用 Venn2.1 软件进行韦恩图的绘制，在 List1 中输入药物的靶点所对应的基因名称，List2 中输入原发性肝癌的相关靶点基因，得到药物与疾病的共同作用靶点。

### 2.4. 通过扶正抑瘤方“活性成分 - 靶点”网络筛选关键活性成分

扶正抑瘤方“活性成分 - 靶点”网络主要通过软件 Cytoscape3.8.2 进行构建和分析。将检索到的药物活性成分和药物与疾病的共同作用靶点制成 Excel 表格，导入到 Cytoscape3.8.2 软件中完成相关网络构建，图中以“节点”表示药物的有效成分和相关基因，用“边”表示两者之间的关系。采用 Cytohubba 插件进行网络特征分析，筛选其中较为重要的活性成分。在得到的网络图中，成分或基因所在圆圈颜色越深，Degree 值越大，该活性成分越重要。

### 2.5. 构建靶点蛋白互作图

在 String 数据库(<https://string-db.org/>)中导入整合得到的扶正抑瘤方的交集靶点，物种选择“Homo sapiens”，可信值设置为 0.98，得到蛋白质相互作用关系的网络图，在 setting 中将网络图调整合适后，以 TSV 格式导出。在已知的相互作用下，蓝色的线表示从策划数据库中得到的蛋白质的相互作用，而紫色的线表示经过实验获得的蛋白质之间的相互作用。将获得的 TSV 文件导入 Cytoscape3.8.2 中作可视化分析，按照 Degree 大小，从中找出核心靶点。

## 2.6. GO 功能分析与 KEGG 通路富集分析

在 R 软件中导入获得的交集基因, 要求  $P < 0.05$ , 得到 GO 功能分析与 KEGG 通路富集分析图。GO 功能分析可从细胞成分(components of cells, CC), 生物学过程(biological process, BP)和分子功能(Molecular function, MF)三个方面进行分析。由于 GO 分析和 KEGG 分析的富集结果较多, 所以选择排在前 20 的富集结果进行分析, 最终以条形图和气泡图的方式呈现。

## 2.7. 构建成分 - 靶点 - 疾病 - 通路网络

在 Cytoscape3.8.2 软件中导入药物有效成分、药物和疾病所对应靶点以及 KEGG 通路信息, 构建成分 - 靶点 - 疾病 - 通路网络。通过 layout 调整图形, 通过 style 调整有效成分、靶点和通路的颜色、形状和大小。图中节点代表有效成分、靶点和通路, 边表示节点与节点相互作用的关系, 而度值则表示在网络中该节点与其它节点之间的连接数。

## 3. 结果

### 3.1. 扶正抑瘤方有效成分的筛选和靶点预测

通过 TCMSp 数据库, 得到扶正抑瘤方的药物成分共 280 个, 将这 280 个成分按照口服生物利用度  $OB \geq 30\%$  和类药性  $DL \geq 0.18$  的限定标准进行筛选, 得到药物有效成分 20 个, 由于 MOL004644、MOL000906 和 MOL000940 这 3 个成分没有对应的靶点, 故剔除, 再排除重复的 3 个成分, 最终得到 14 个有效成分, 如表 1 所示。在 Related targets 中查询扶正抑瘤方有效成分的相关作用靶点共 694 个, 并在 Uniprot 中将蛋白名称转换为基因名。

**Table 1.** Active ingredients of Fuzheng anti-tumor prescription

**表 1.** 扶正抑瘤方有效活性成分

MOLID	Molecule Name	OB (%)	DL	来源中药
MOL011076	(+)-Medicarpin	60.46	0.34	红芪
MOL011078	3',7-dihydroxy-4'-methoxy-isoflavone	50.7	0.24	红芪
MOL001792	DFV	32.76	0.18	红芪
MOL000392	formononetin	69.67	0.21	红芪
MOL000417	Calycosin	47.75	0.24	红芪
MOL004328	naringenin	59.29	0.21	红芪
MOL004941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	71.12	0.18	红芪
MOL000500	Vestitol	74.66	0.21	红芪
MOL005575	Gentianaquin	72.82	0.27	红芪
MOL008173	daucoesterol_qt	36.91	0.75	红芪
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	当归
MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	当归
MOL000296	hederagenin	36.91	0.75	莪术
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	墓头回

### 3.2. 收集原发性肝癌相关靶点和交集靶点

在 Genecard 数据库中以 “primary hepatic carcinoma” 为关键词，查询原发性肝癌的相关靶点，整理后共 8803 个。将扶正抑瘤方有效成分作用靶点与原发性肝癌相关靶点进行匹配，绘制韦恩图，如图 1，得到 184 个扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的潜在作用靶点。

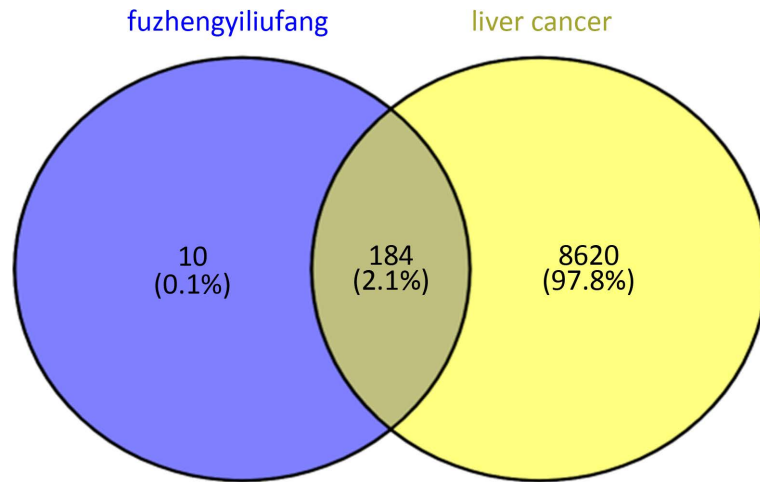


Figure 1. Intersection targets of Fuzheng anti-tumor prescription and primary liver cancer

图 1. 扶正抑瘤方与原发性肝癌的交集靶点

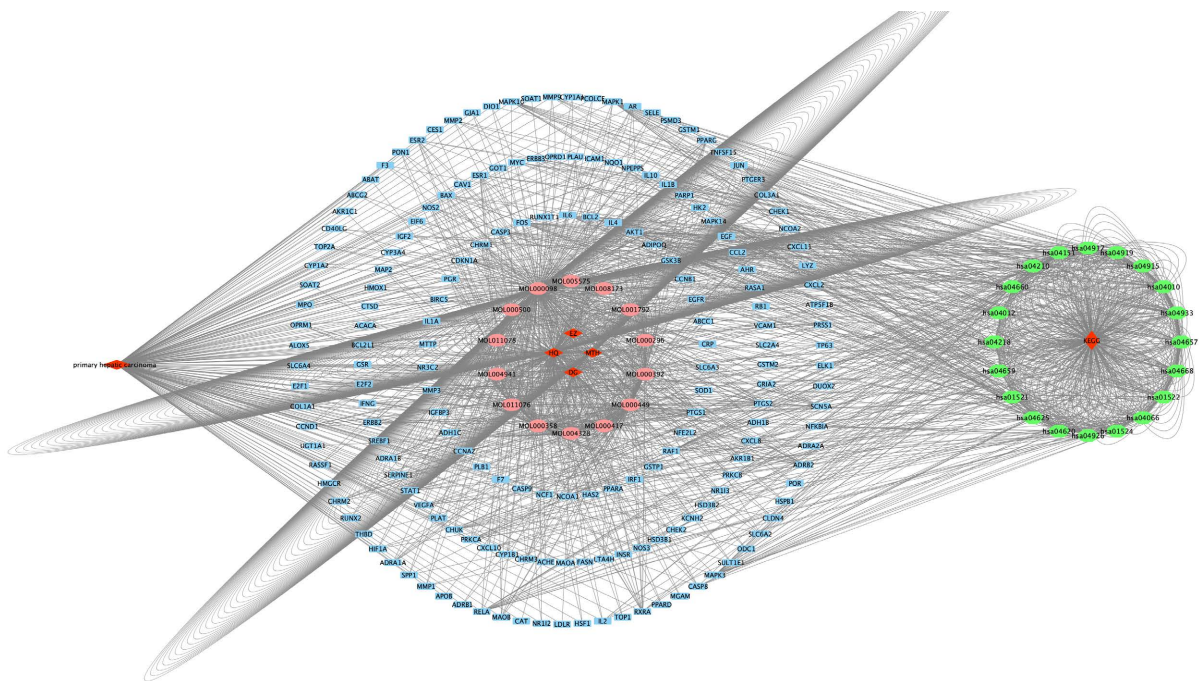


Figure 2. Component-target-disease-pathway network diagram

图 2. 成分 - 靶点 - 疾病 - 通路网络图

### 3.3. 成分 - 靶点 - 疾病 - 通路网络(Component-Target-Disease-Pathway Network Diagram)

将收集到的扶正抑瘤方的有效成分、预测的靶点、疾病的靶点和 KEGG 通路进行整理，导入到

Cytoscape3.8.2 中, 得到成分 - 靶点 - 疾病 - 通路网络图, 如图 2。该网络中, 包含 221 个节点, 2064 条边, 其中扶正抑瘤方的活性成分 14 个, KEGG 通路 20 条。

### 3.4. 筛选关键活性成分

根据网络分析结果, 预测槲皮素(MOL000098, Degree = 272)、豆甾醇(MOL000449, Degree = 52)和  $\beta$ -谷甾醇(MOL000358, Degree = 52) 3 种活性成分为扶正抑瘤方中发挥作用的主要成分, 其次为柚皮素(MOL004328, Degree = 31)、刺芒柄花素(MOL000392, Degree = 28)和维斯体素(MOL000500, Degree = 22), 如图 3。

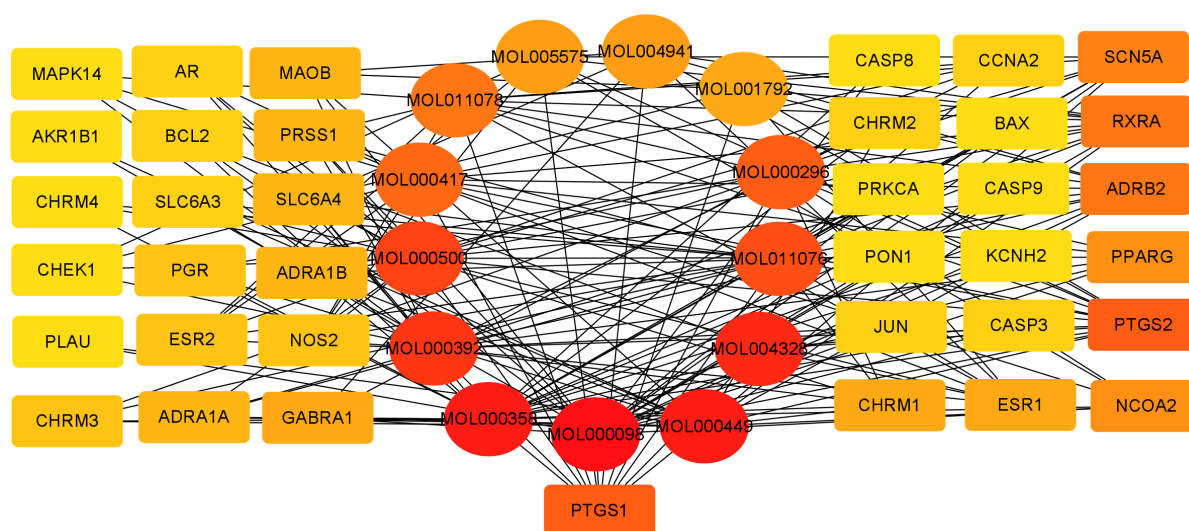


Figure 3. Key active ingredients  
图 3. 关键活性成分

### 3.5. 构建蛋白互作网络图

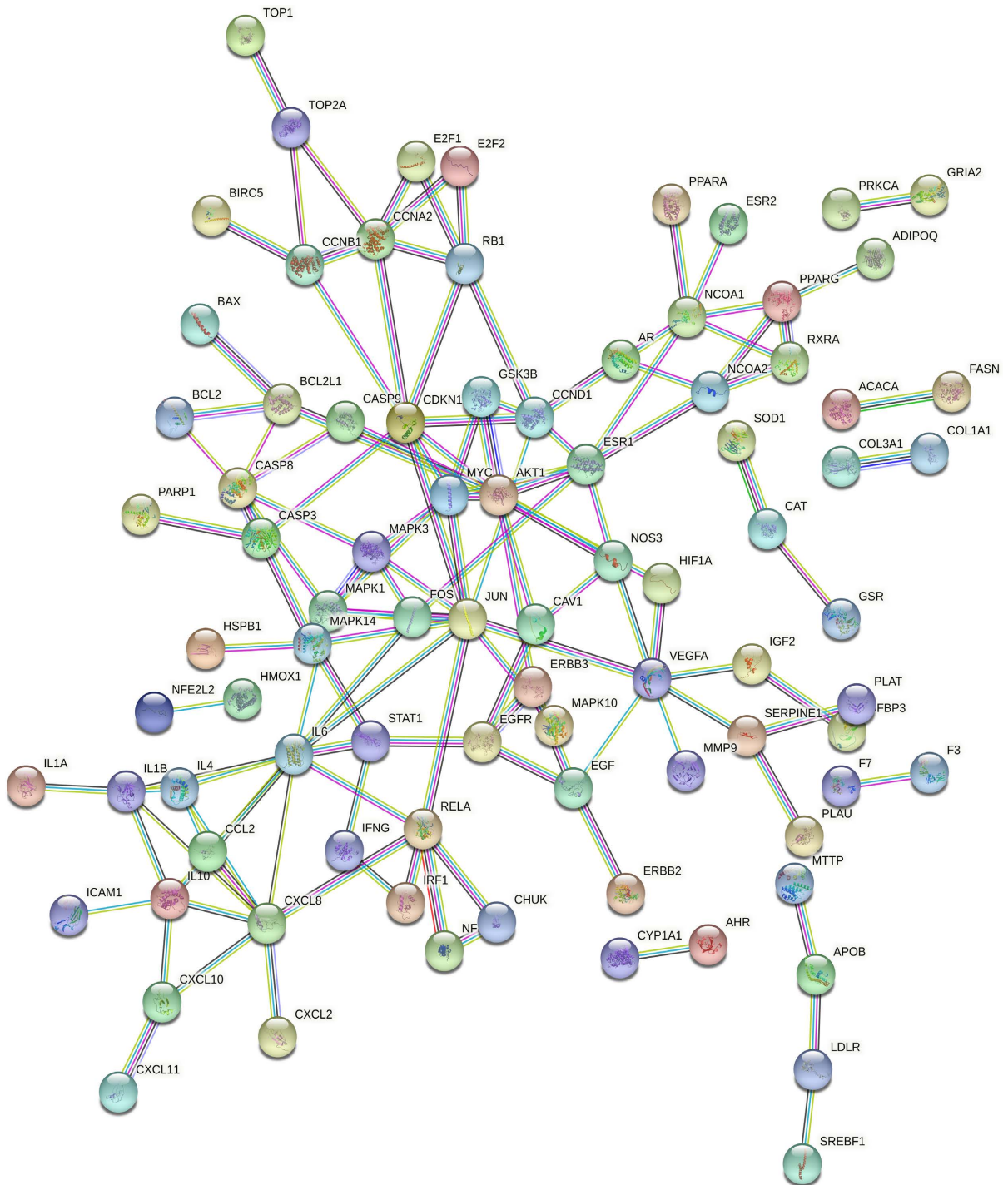
将收集到的 184 个潜在作用靶点导入到 String 软件中绘制蛋白网络互作图, 将物种设置为人类(Homo sapiens), 可信度设置为 0.98, 得到该 PPI 图中共有 184 个节点, 131 条边, 平均度值为 1.42, 如图 4。将得到的 TSV 格式文件导入 Cytoscape3.8.2 中, 对 PPI 图中靶点进行可视化分析, 如图 5。按照 Degree 值大于 2.84 的标准选出扶正抑瘤方的靶点 37 个, 取前 5 个进行分析, 分别是 JUN (转录因子, degree = 11), IL-6 (白细胞介素 6, degree = 10), AKT-1 (丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1, degree = 10), CXCL-8 (雌激素硫酸转移酶抗体 8, degree = 8), CDKN1A (细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A, degree = 8)。这 5 个靶点在原发性肝癌的治疗中具有重要意义。

### 3.6. GO 功能分析与 KEGG 通路富集分析

将扶正抑瘤方的有效成分作用靶点和原发性肝癌作用靶点取交集后获得的 184 个潜在作用靶点导入到 R 软件中, 按照  $P < 0.05$  的条件, 将富集程度排在前 20 的筛选出作 GO 分析和 KEGG 分析, 得到 184 个作用靶点参与了 2456 个生物学过程和 106 条 KEGG 信号通路。

通过 GO 分析可得, 细胞成分 89 个, 主要富集在薄膜筏、膜微结构域、膜区、转录、囊腔、核染色质、胞质囊腔、质膜筏、分泌颗粒内腔和小凹, 如图 6。细胞生物学过程 2207 个, 主要是对营养水平的反应、对脂多糖的反应、对细菌源分子的反应、对类固醇激素的反应、对氧气水平的反应、抗氧化反应、

对金属离子的响应、对抗生素的反应、对缺氧的反应和对氧水平下降的反应,如图7。分子功能160个,主要参与DNA结合转录激活因子活性,RNA聚合酶II特异性、受体配体活动、细胞因子受体结合、细胞因子活性、酰胺绑定、泛素样蛋白连接酶结合、磷酸酶绑定、核受体的活动、转录因子活性,直接配体调控序列特异性DNA结合和血红素结合部位,如图8。



**Figure 4.** Protein interaction network diagram (PPI diagram)  
**图 4.** 蛋白相互作用网络图(PPI 图)

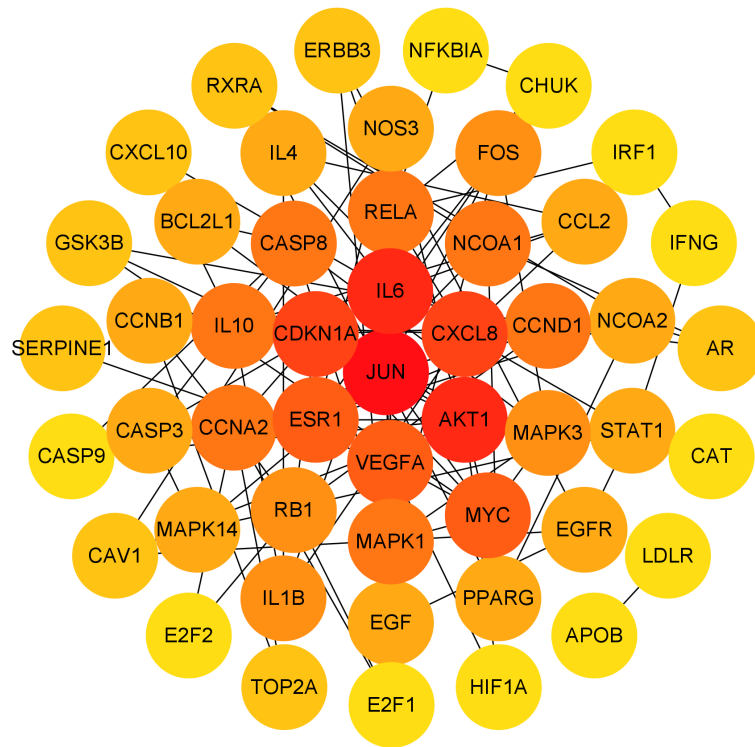


Figure 5. Visualization of the PPI plot  
图 5. PPI 图的可视化

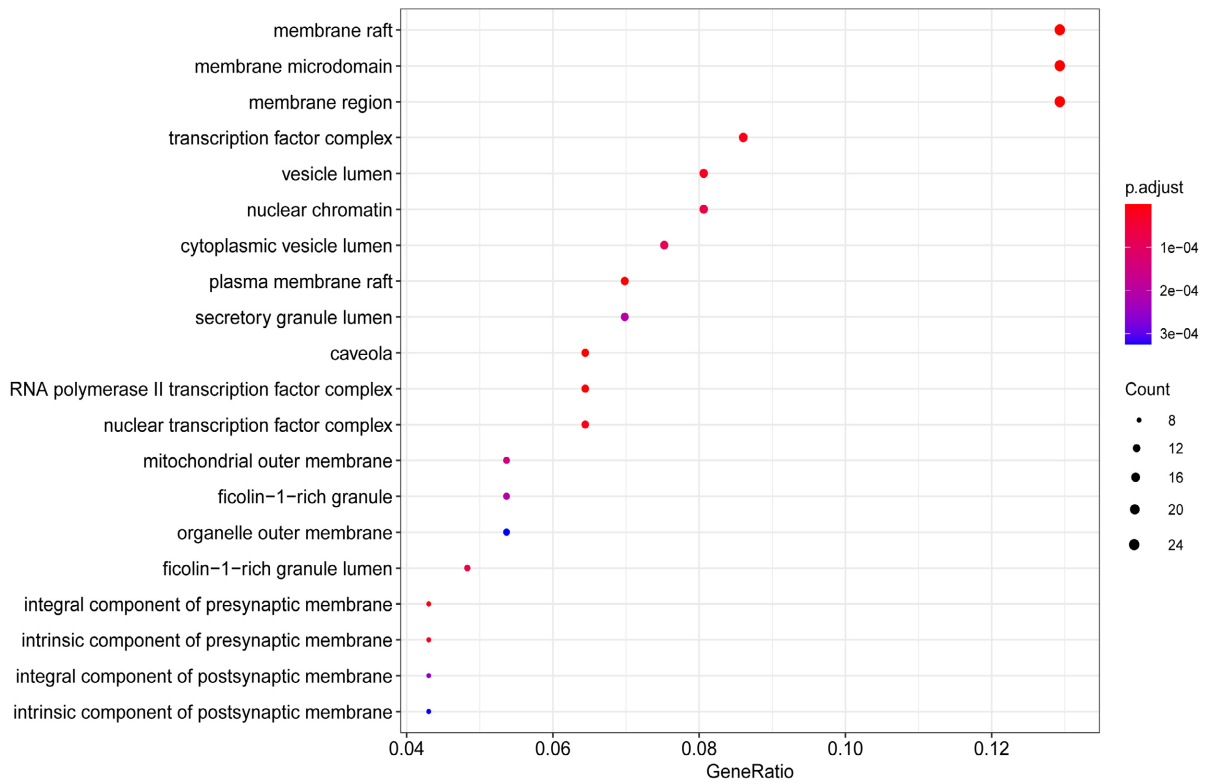
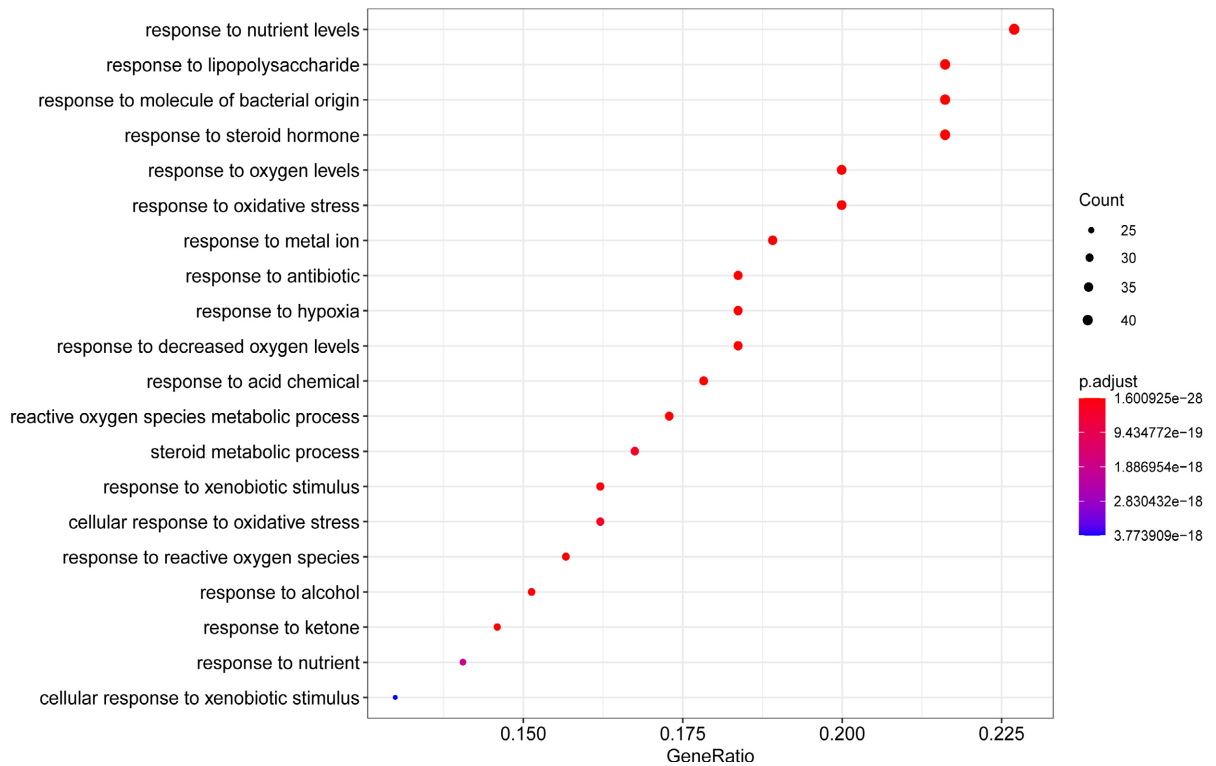
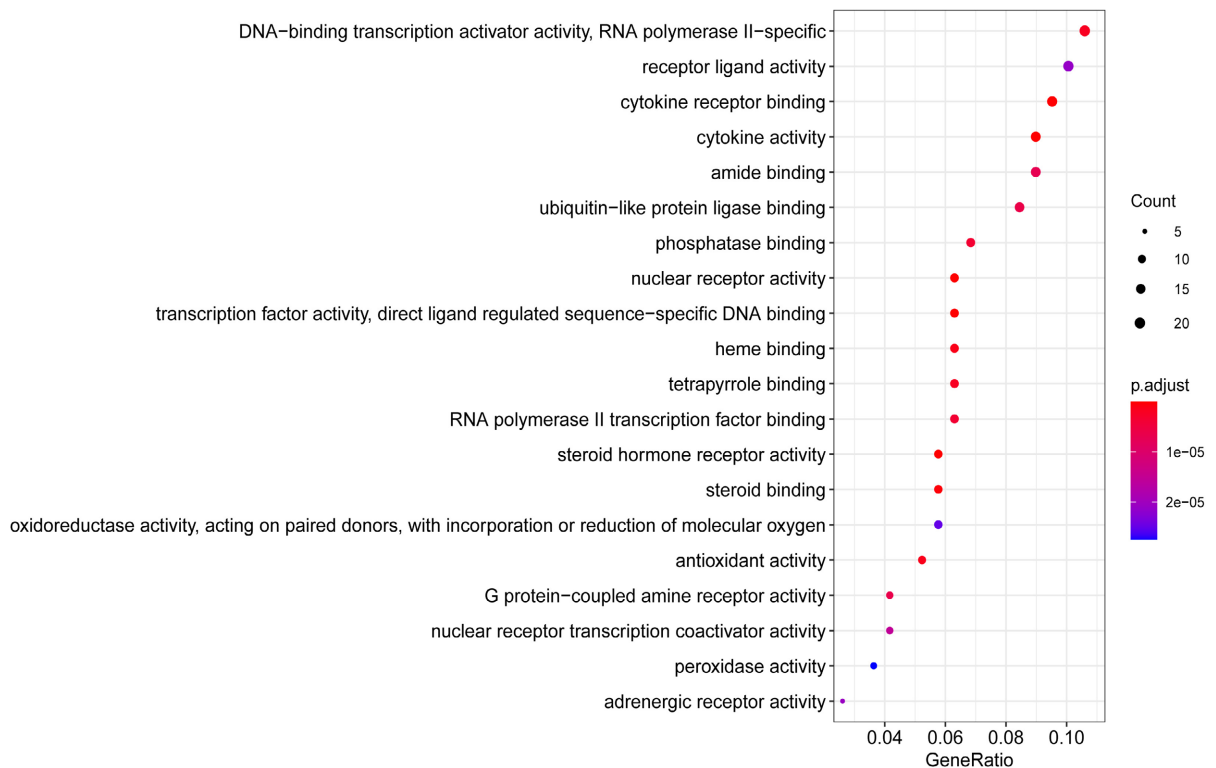


Figure 6. GO Analysis CC diagram of Fuzheng anti-tumor prescription in the treatment of primary liver cancer (top 20)  
图 6. 扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的 GO 分析 CC 图(前 20 位)





**Figure 7.** GO analysis BP diagram of Fuzheng anti-tumor prescription in the treatment of primary liver cancer (top 20)  
**图 7.** 扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的 GO 分析 BP 图(前 20 位)



**Figure 8.** MF figure of GO analysis of Fuzheng anti-tumor prescription in the treatment of primary liver cancer (top 20)  
**图 8.** 扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的 GO 分析 MF 图(前 20 位)

KEGG 通路分析结果显示：扶正抑瘤方对原发性肝癌起作用的主要通路是糖尿病并发症的 AGE-RAGE 信号通路、PI3K-AKT 信号通路、MAPK 信号通路、IL-17 信号通路、TNF 信号通路、细胞衰老、内分泌的阻力、HIF-1 信号通路、松弛素信号通路和细胞凋亡等，如图 9。

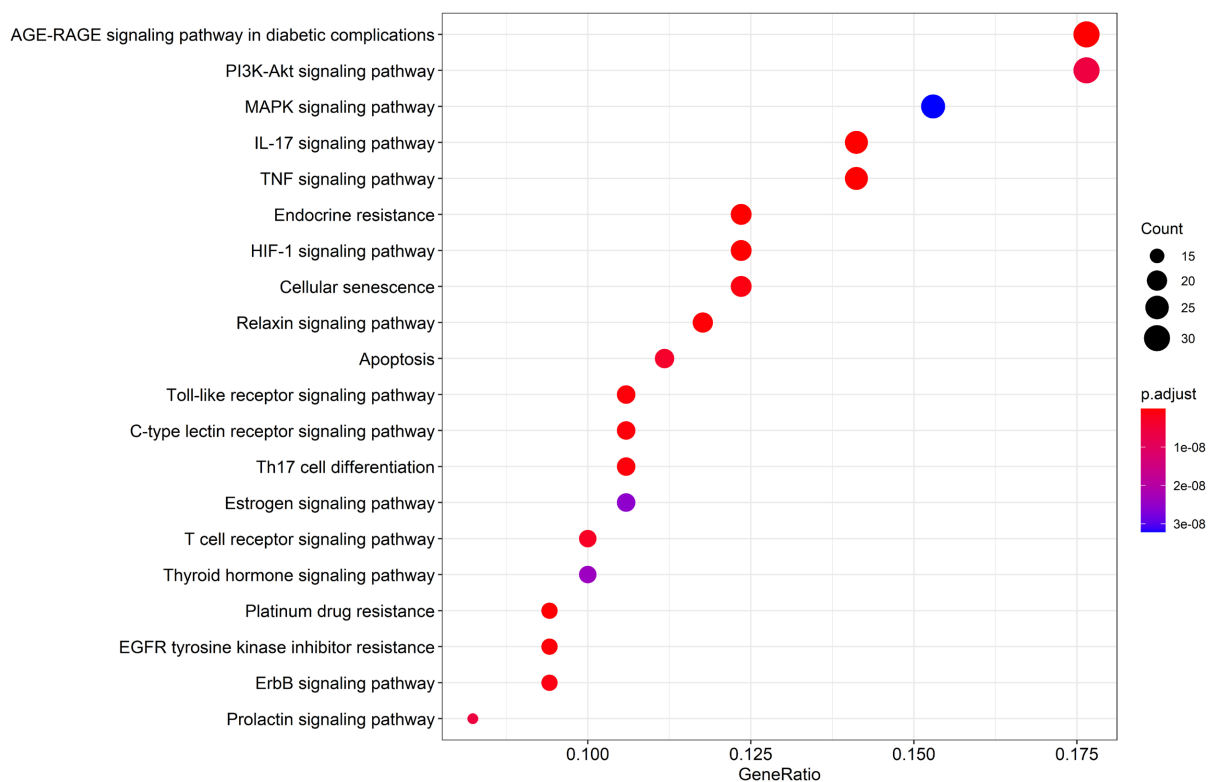


Figure 9. KEGG pathway enrichment diagram of Fuzheng anti-tumor prescription in the treatment of primary liver cancer (top 20)

图 9. 扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的 KEGG 通路富集图(前 20 位)

#### 4. 讨论

肝癌在中医学中归属于“癥瘕、积证、臌胀、肥气”等范畴[9]。原发性肝癌的发病机制目前尚不明确，可能与多种因素的综合作用有关，目前认为与肝硬化，病毒性肝炎，黄曲霉素，寄生虫病以及环境和遗传因素密切相关。在中医的角度，王文志等人提出肝癌的发生常受机体内外因素共同影响，内因常为肝郁气滞，邪毒积聚，气滞郁结，而外因则常为饮食不洁，情志所伤，邪气侵入，内外因共同作用，导致肝癌的发生[10]。因此对于肝癌的治疗重在疏肝理气，清热解毒，活血化瘀，调整饮食，愉悦心情。扶正抑瘤方是由甘肃省名老中医赵健雄教授根据多年经验研制，主要包含红芪、当归、莪术和墓头回 4 味中药[11]。其中红芪具有补气升阳，固表止汗，利水消肿，生津养血，行滞通痹，脱毒排脓，敛疮生肌的功效[12]，临床上常用来治疗气虚的乏力、食少、便溏以及便血。另外经过现代医学证明，还可有免疫促进、延缓衰老的作用；莪术可行气止痛，破血祛瘀，临床常用来治疗经闭、痛经、胸痛[13]；墓头回可清热解毒，收敛止血[14]，临床上常用来抗肿瘤，治疗失眠；当归可养血和血，补血止痛[15]，临床上常用当归治疗月经不调、经闭痛经和跌打损伤等病症。4 味药共同作用于机体，起到扶正祛邪，标本兼治的作用，对原发性肝癌患者的治疗可具有良好效用。

本研究通过网络药理学的方法对扶正抑瘤方中的抗癌作用进行分析，筛选出了扶正抑瘤方有效活性

成分 14 个, 潜在药物靶点 184 个, 生物学过程 2456 个, 共涉及 106 条通路。网络分析发现扶正抑瘤方可能作用于 JUN、IL-6、AKT1、CXCL8、CDKN1A 等核心靶点, 主要活性成分为槲皮素、豆甾醇和  $\beta$ -谷甾醇等, 糖尿病并发症的年龄-年龄信号通路和 PI3K-ART 信号通路等关键通路发挥抗原发性肝癌的作用。研究通过网络的方式表现出了药物、靶点、基因和疾病之间的复杂关系, 为进一步探寻原发性肝癌的治疗方式提供了思路。

网络分析结果显示扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的主要化合物是槲皮素、豆甾醇和  $\beta$ -谷甾醇。有许多研究表明槲皮素具有良好的抗肿瘤活性, 而其发挥抗肿瘤作用主要是通过抑制肿瘤细胞的生长增殖、诱导肿瘤细胞的凋亡机制和抑制肿瘤细胞的侵袭转移等机制完成。槲皮素抑制肿瘤细胞的增殖常常通过阻滞细胞正常生长所要经过的 G1/S 期和 G2/M 期实现, 当这两个关键调控点受到阻滞, 细胞将无法在细胞周期内进行正常的有丝分裂与增殖[16]。相关研究也发现槲皮素浓度越高、作用时间越长, 对肿瘤细胞的抑制作用也越强[17] [18]。有研究表明槲皮素可以通过抑制 Bcl-2 等抗凋亡蛋白, 剂量依赖性地降低 HeLa 细胞的活力, 以及降低促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白的比例促进肿瘤细胞的凋亡[19]。此外, 槲皮素高效低毒的特点也使得它具有更大的开发潜能。尽管目前对于描述豆甾醇抗肿瘤作用的文献较少, 但仍可了解到豆甾醇对多种肿瘤细胞均具有肿瘤抑制作用, 例如人肝癌细胞、胃癌细胞、肝管癌细胞等。与槲皮素一样, 豆甾醇也主要是通过阻滞细胞周期、调控细胞凋亡和破坏肿瘤血管生成等机制发挥其抗肿瘤作用。张硕等[20]的研究发现白花蛇舌草中豆甾醇可通过增加 G0/G1 期细胞比例, 降低 G2/M 期细胞比例, 促进肝癌细胞的凋亡。有研究表明,  $\beta$ -谷甾醇可促进 Bax 蛋白表达, 同时降低 Bcl-2 蛋白表达并活化 Bid, 即通过调节线粒体的功能来调节细胞凋亡, 发挥抗肿瘤作用[21]。李庆勇等[22]的研究发现,  $\beta$ -谷甾醇、豆甾醇对人肝癌细胞 SMMC-7721 具有明显的增殖抑制作用。

根据筛选出来的核心靶点的 Degree 参数得知扶正抑瘤方主要通过 JUN、IL-6、AKT1、CXCL8、和 CDKN1A 等靶点治疗原发性肝癌。JUN 是一种致癌转录因子, 通常说 JUN 常指 c-JUN, c-JUN 和 c-FOS 共同组成 AP-1, 常在在 RAS 蛋白参与下, 通过 MAPK 途径被激活[23]。在结直肠癌等多项肿瘤研究中, 当对 c-JUN 对糖基转移酶  $\beta$ 3GnT8 的调控过程进行干扰时, HG-CD147 糖蛋白糖基化水平也会受到影响, 最终可抑制癌细胞的增殖[24]。IL-6 是白细胞介素家族的一员, 是一类具有多效活性的细胞因子, 参与多种细胞的生长分化, 在多种疾病的炎症反应和免疫学过程中也发挥着重要的作用。IL-6 在体内的含量过多或过少都会影响疾病的发生发展。对于原发性肝癌患者来说, 肝细胞往往是受损状态, 此时肝脏不能完全清除 IL-6, 机体的廓清作用便会减弱, 导致体内的 IL-6 增加, 从而影响疾病的发生发展。相关研究表明: IL-6/STAT3 信号通路会影响肝癌发展。例如鳖甲煎丸通过下调 Bcl-2, 上调 Bax 基因表达, 并抑制 IL-6/Stat 信号通路, 发挥其抗肿瘤作用[25]。同时, 有研究证实多种癌症细胞均可产生 IL-6, 而其含量主要与所患疾病的预后有关[26]。AKT1 是 AKT 家族(丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶)的一个亚型, 该家族的不同亚型(AKT1, AKT2, AKT3)在调节细胞增殖、转移和迁徙均表现出不同甚至相反的作用[27]。CXCL8 即雌激素硫酸转移酶抗体, 它是一类趋化因子, 由 PBMCs 或 PMNs 产生。当与受体 CXCR1 和 CXCR2 结合以后可以使中性粒细胞趋向肿瘤炎症组织, 使得肿瘤环境恶化。因此。可以通过阻断 CXCL8 与 CXCR1、CXCR2 的结合, 改善肿瘤环境[28]。临床上常用的风湿药“艾拉莫德”就是通过降低 CXCL8 的浓度来降低肝癌细胞的增殖转移[29]。CDKN1A 是细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂。CDKN1A 基因的表达状态会影响卵巢癌、鼻咽癌、前列腺癌等的发生发展, 但其表达常受抑癌蛋白 p53 的控制[30]。

GO 功能分析显示, 扶正抑瘤方的潜在作用靶点在生物进程中主要涉及对营养水平和对氧气等的反应和在细胞成分中的细胞膜、细胞质和囊腔, 以及在分子功能的 DNA 结合转录激活因子活性, RNA 聚合酶 II 特异性、受体配体活动。因此, 对于原发性肝癌的治疗可基于这些生物过程进行。KEGG 富集分析显示, 扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的多条通路都与肿瘤密切相关, 如 PI3K-AKT 信号通路、MAPK 信号

通路、IL-17 信号通路、TNF 信号通路等。PI3K/AKT 信号通路在肝细胞癌增殖、存活和迁移方面比较重要,已经被证明在肝细胞癌中频繁失衡。作为 PI3K/AKT 信号通路下游的一个调控因子,当 AKT 失活时,PI3K/AKT 信号通路活化就会受到抑制,AKT 无法通过 PI3K 活化作用生成 P-AKT,从而抑制细胞增殖,促进细胞凋亡,最终达到抑制肿瘤发生发展的效果。相关研究证实,AKT1 在 HCC 中表达水平较高,在发生发展过程中起促癌作用,当沉默 AKT1 的表达就能抑制肝癌细胞的增殖及迁移[31][32]。此外许多研究也证实 AKT1 基因多态性与原发性肝癌的发生可能有密切的关系。MAPK 可以将细胞外的信号传导至细胞内,去参与细胞增殖、分化和凋亡,调节细胞周期等。MAPK 信号通路目前包含 4 条通路,包括 ERK1/2 通路、JNK/SAPK 通路、p38 MAPK 通路和 ERK5/BMK 通路,而这几条通路拥有不同功能,例如其中 JNK/SAPK 通路主要参与细胞对物理因素(辐射,温度变化,渗透压)等的应激,而 p38 MAPK 通路更多参与炎症、细胞分化、细胞凋亡和调整细胞周期等,因此成为了许多抗炎药物研发的靶位[33][34]。因此,在原发性肝癌的发生过程中,MAPK 通路起着重要的调控作用。有关走马胎活性组分对肝癌 HepG2 细胞 DUSPs/MAPK 信号通路影响的研究,就是通过降低 MAPK 磷酸化水平,进而抑制肝癌的发生发展[35]。IL-17 信号通路,IL-17 是 Th17 细胞产生的功能性因子,通过由 IL-17 与受体 IL-17R 组成的异二聚体受体复合物发出信号,激活 NF- $\kappa$ B、MAPKs 和 C/EBPs 等下游通路,诱导细胞因子和趋化因子的表达[36]。过程中的 ACT1 被认为是 IL-17 信号传导的主要介质。在多项研究中 IL-17 已被证明与肿瘤的形成、生长和转移密切相关,但是并不能确定 IL-17 对肿瘤产生促进还是抑制的作用,这与肿瘤微环境有关[37]。

综上,本研究通过运用网络药理学的方法,获得了扶正抑瘤方的有效成分,收集了扶正抑瘤方治疗原发性肝癌的潜在作用靶点和相关通路,构建了成分-靶点-疾病-通路网络,直观地描述了其相互作用关系,为后期原发性肝癌的治疗以及临床药物的研制提供了思路。但是因为本方所含药物较少,加之墓头回、莪术和当归 3 味药物筛选出来的有效成分较少,可能会对结果有所影响。另外,由于本项研究数据均是在数据库中获得,便无法全面考虑临床中药物应用情况。因此,本研究应建立实验进行进一步研究。

## 参考文献

- [1] 周泽文,刘颖春,向邦德,余红平.原发性肝癌的全球展望:流行情况、危险因素和人群归因分值[J].中国癌症防治杂志,2021,13(1):14-21.
- [2] 朱笑生,刘文超.原发性肝癌全球流行情况和危险因素的新进展[J].现代肿瘤医学,2018,26(14):2297-2301.
- [3] 原发性肝癌诊疗规范(2019年版)[J].中国实用外科杂志,2020,40(2):121-138.
- [4] 李红燕,宋凤丽,孔祥文,张京平,马月静.不同治疗方式对原发性肝癌预后的影响及危险性因素分析[J].肿瘤药学,2019,9(1):60-63.
- [5] 涂爽爽,郭卉.中医药治疗原发性肝癌的作用机制[J].中医学报,2021,36(4):695-698.
- [6] 赵铁建,傅品悦,刘露露,郑洋,彭岳.中药莪术几种活性成分对肝脏疾病防治作用的机制[J].世界华人消化杂志,2017,25(27):2433-2440.
- [7] Ru, J.L., Li, P., Wang, J.N., et al. (2014) TCMSP: A Database of Systems Pharmacology for Drug Discovery from Herbal Medicines. *Journal of Cheminformatics*, 6, Article No. 13.
- [8] Xu, X., Zhang, W.X., Huang, C., et al. (2012) A Novel Chemometric Method for the Prediction of Human Oral Bio-availability. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 6964-6982. <https://doi.org/10.3390/ijms13066964>
- [9] 邓天好,蔡媛,刘珍,易钊旭,赵梁,张振,曾普华,潘敏求.基于网络药理学研究肝复方治疗肝癌的分子机制[J].湖南中医杂志,2021,37(3):154-160.
- [10] 王文志,宓余强.原发性肝癌的中医病因病机浅析[J].中医学报,2013,28(1):14-15.
- [11] 吴建军,许瑞,张艳霞,臧凯宏,岳嘉,刘凯,刘永琦,李应东,郑贵森.扶正抑瘤方对胶质瘤裸鼠肿瘤生长抑制的影响[J].中成药,2020,42(3):620-625.
- [12] 薛志远.红芪和黄芪抗骨质疏松、抗氧化及抗肝损伤作用比较研究[D]:[硕士学位论文].兰州:兰州大学,2018.

- [13] 李婧, 干泓侠. 基于网络药理学与分子对接技术的莪术抗肝癌作用机制研究[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2020, 46(5): 499-509.
- [14] 王志晓, 马骏, 蔡香菊, 马兰. 墓头回中抗肿瘤活性成分及其作用研究进展[J]. 中兽医医药杂志, 2018, 37(3): 24-26.
- [15] 刘泽宇, 万宇翔, 黄金昶. 当归四逆汤治疗肝细胞癌作用机制的网络药理学分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 185-192.
- [16] 张志琴, 朱双雪. 槲皮素的药理活性与临床应用研究进展[J]. 药学研究, 2013, 32(7): 400-403+433.
- [17] 周孟, 廖祥明, 王珊, 巩仔鹏, 张荣红. 槲皮素抑制人肝癌细胞 HepG2 的体内外活性研究[J]. 安徽医药, 2019, 23(11): 2136-2141.
- [18] 陈兆勋, 高彦宇, 李冀. 不同浓度槲皮素对人肝癌细胞株 Hep3B、Huh7 细胞凋亡的影响[J]. 中医杂志, 2015, 56(12): 1051-1053.
- [19] 高丽枫, 李秀丽, 张雪辉, 王晋. 槲皮素在肝细胞癌中的作用机制研究进展[J]. 赤峰学院学报(自然科学版), 2021, 37(6): 65-70.
- [20] 张硕, 岳旺, 王蕾, 宋衍芹, 杨志宏. 白花蛇舌草豆甾醇对肝癌细胞的体内外抑制作用及对其增殖周期、凋亡的影响[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(11): 2016-2017+2009.
- [21] 张忠泉, 邢煜君, 胡国强, 谢松强.  $\beta$ -谷甾醇诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡机制研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(15): 2145-2148.
- [22] 李庆勇, 姜春菲, 张黎, 邱伟, 孟祥东.  $\beta$ -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.
- [23] 王运武. CFIm25 通过 JNK/c-Jun 和 P38 信号通路对肝癌增殖及侵袭转移影响的研究[D]: [博士学位论文]. 武汉: 华中科技大学, 2018.
- [24] 邱浩. 转录因子 c-Jun 通过调控  $\beta$ 3GnT8 表达改变肝癌细胞侵袭、迁移机制研究[D]: [硕士学位论文]. 苏州: 苏州大学, 2016.
- [25] 潘龙. FABP5 上调 IL6/STAT3/VEGFA 通路促进肝细胞肝癌肿瘤血管生成[D]: [博士学位论文]. 重庆: 重庆医科大学, 2018.
- [26] 陈康, 金晨, 程玉瑶, 张庆熙, 李洵珣, 张凌. 基于网络药理学和分子对接探讨鸡血藤治疗肺癌的分子作用机制[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(4): 837-844.
- [27] 田莉, 谢惠芳, 孙高峰. AKT1 基因 rs1130214 位点基因多态性与原发性肝癌的病例对照研究[J]. 新疆医科大学学报, 2016, 39(6): 757-759+762.
- [28] 毕惠娟, 陈建民, 陈静静, 王健. CXCR1、CXCR2 及 CXCL8 在乙肝相关肝癌中的表达及临床意义[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(6): 895-899.
- [29] 蔡文杰. CXCL8 及其受体 CXCR1、CXCR2 在肝癌患者炎-癌转化中的细胞分子机制[D]: [硕士学位论文]. 淮南: 安徽理工大学, 2019.
- [30] 唐浩然. 青叶胆活性成分獐牙菜苦苷抗肝癌细胞增殖作用及机制研究[D]: [博士学位论文]. 昆明: 昆明医科大学, 2020.
- [31] 赵艺蔓, 徐香梅, 徐旭, 侯恩存. 网络药理学方法研究茵陈蒿汤对原发性肝癌的作用机制[J]. 中西医结合肝病杂志, 2020, 30(1): 53-56+97-98.
- [32] 潘宇, 徐菲, 龚辉, 吴芳芳, 陈路, 曾杨丽, 李娟, 蒋益兰, 李顺祥. 基于网络药理学探讨肝复乐防治原发性肝癌的作用机制[J]. 中成药, 2020, 42(12): 3172-3179.
- [33] 李福阳, 张荣杰, 刘嘉辉, 陈泽雄, 孙保国. 基于网络药理学探索健脾解毒方治疗肝癌的机制[J]. 中药材, 2021(3): 681-687.
- [34] 李旭, 郑玉杰, 邹文静, 王玉珍, 廖子君, 郑琪, 李丽娜, 翟阳. 基于网络药理学探讨参芪扶正注射液治疗原发性肝癌的作用网络与机制预测[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(17): 1371-1379.
- [35] 刘嘉辉, 孙保国, 张诗军, 邝卫红, 周厚明. 基于网络药理学和分子对接的马齿苋治疗肝癌作用机制研究[J]. 中药材, 2020, 43(12): 3017-3023.
- [36] 商志浩, 潘成镇, 马月辉, 谢卓容, 韦紫怡, 罗伟生, 彭岳, 岑妍慧. 基于网络药理学联合分子对接对逍遥散干预原发性肝癌的作用机制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(8): 1302-1315.
- [37] 胡帅航, 刘童童, 周彤, 李经蕾, 王一燃, 侯炜. 基于网络药理学和分子对接法探索玉屏风散治疗非小细胞肺癌作用机制研究[J]. 海南医学院学报, 2022, 28(1): 48-57.