

# 基于网络药理学探索扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的作用机制

张舟<sup>1</sup>, 卢丽莎<sup>1</sup>, 陈佳玥<sup>1</sup>, 吴雨<sup>1</sup>, 朱雄雄<sup>1</sup>, 王国瑞<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10月18日; 录用日期: 2022年11月15日; 发布日期: 2022年11月22日

## 摘要

目的: 探索扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的关键有效成分和作用机制。方法: 基于网络药理学方法利用TCMSP、DisGeNET、GeneCards等数据库收集相关靶基因; 分别通过Venny平台、String数据库、DAVID数据库、KEGG数据库分析数据, 获得扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的交集基因、蛋白互作图, GO分析结果和KEGG通路; 最后使用GraphPad Prism8和Cytoscape3.8.2软件CytoHubba插件绘图实现数据可视化。结果: 本次研究发现方剂治疗胶质瘤的关键有效成分为红芪所含槲皮素、柚皮素、芒柄花黄素, 方剂治疗胶质瘤关键靶基因分别是肿瘤抑制蛋白质p53 (p53)、原癌基因蛋白质c-akt (AKT1)、N-Myc原癌基因蛋白质(MYC)、丝裂原活化蛋白激酶1 (MAPK1)、血管内皮生长因子A (VEGFA), 主要通过PI3K/Akt通路、Ras-Raf-MAPK通路、p53通路、VEGF通路等多条通路发挥功效。结论: 扶正抑瘤汤以红芪为方剂之首, 四组分合理配伍; 以黄酮类化合物为有效成分之首, 多成分协同增效; 通过AKT1、MAPK、p53、VEGF、MYC等多条靶基因相关通路综合发挥胶质瘤治疗作用。

## 关键词

扶正抑瘤汤, 神经胶质瘤, 红芪, 黄酮类

# Network Pharmacology Analysis of the Anti-Glioma Pharmacological Mechanisms of Fuzheng Yiliu Decoction

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

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

\*通讯作者。

文章引用: 张舟, 卢丽莎, 陈佳玥, 吴雨, 朱雄雄, 王国瑞, 吴建军. 基于网络药理学探索扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的作用机制[J]. 临床医学进展, 2022, 12(11): 10441-10452. DOI: 10.12677/acm.2022.12111505

<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: Oct. 18<sup>th</sup>, 2022; accepted: Nov. 15<sup>th</sup>, 2022; published: Nov. 22<sup>nd</sup>, 2022

## Abstract

**Objective:** To clarify the mechanism of Fuzheng Yiliu Decoction in the treatment of glioma and explore the key effective components and key target genes. **Methods:** Collected the target genes related to Fuzheng Yiliu Decoction and glioma based on the network pharmacology methods; Obtained the protein-protein interaction network, gene ontology analysis results and metabolic pathways by analyzing prescription and disease intersection genes; Used Cytoscape3.8.2 and GraphPad Prism8 softwares to realize data visualization. **Results:** It was found that quercetin, naringin and formononetin contained in Hongqi of Fuzheng Yiliu Decoction were the key active components in the treatment of glioma. The key target genes of glioma treated by prescription are Tumor Suppressor Protein p53 (p53), Proto-Oncogene Proteins c-akt (Akt1), N-Myc Proto-Oncogene Protein (Myc), Mitogen-Activated Protein Kinase 1 (MAPK1), Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGFA), respectively. Prescription exerted effects mainly through PI3K/Akt pathway, Ras-RAF-MAPK pathway, p53 pathway, VEGF pathway etc. **Conclusion:** Four components of Fuzheng Yiliu Decoction are reasonably compatible which Hongqi is the most important. Flavones as the most effective components play synergistic effect with multiple components. Fuzheng Yiliu Decoction comprehensively through multiple target gene-related pathways such as Akt1, MAPK, p53, VEGF and MYC treats glioma.

## Keywords

Fuzheng Yiliu Decoction, Glioma, Hongqi, Flavones

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

胶质瘤起源于神经胶质祖细胞，是中枢神经系统最常见的肿瘤，以弥漫性组织浸润伴周围脑实质破坏为主要特征、手术切除辅以放化疗为主要治疗手段。现代医学模式下中医疗法辨证统一、因人制宜、阴阳平衡的观念优势日益凸显，中西医结合抗肿瘤增强药物敏感性、缓解不良反应、改善精神状态、提高生活质量势在必行。扶正抑瘤汤以红芪、当归、莪术、墓头回 3:1:1:3 配伍，扶正祛邪、益气养阴，是甘肃省知名中医多年临床应用疗效验证的经验方，课题组前期研究也显示扶正抑瘤汤能协同 II 型干扰素 (Interferon- $\gamma$ , INF- $\gamma$ ) 基因转染的骨髓间充质干细胞 (Bone Mesenchymal Stem Cells, BMSCs) 抑制胶质瘤裸鼠肿瘤生长，抑瘤的同时减毒增效，维持 BMSCs 稳态 [1] [2]。为进一步探索扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的关键有效成分和关键靶点，挖掘分析生物网络药理学大数据，明确扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的作用机制，奠定胶质瘤靶向治疗理论基础。

## 2. 资料与方法

### 2.1. 收集资料

#### 2.1.1. 收集扶正抑瘤汤有效成分及靶基因

利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP 数据库 <https://old.tcmssp-e.com/tcmssp.php>)以药物口服生物利用度(OB)大于 30%，成药性(DL)大于 0.18 筛选收集扶正抑瘤汤有效成分及对应靶蛋白，并在通用蛋白资源数据库(UniProt 数据库 <https://www.uniprot.org/>)为靶蛋白匹配人类已验证的唯一靶基因。

#### 2.1.2. 收集胶质瘤靶基因

利用疾病基因关联数据库(DisGeNET 数据库 <https://www.disgenet.org/>)以 Glioma 为关键词、疾病基因分数大于 0.3 筛选收集胶质瘤靶基因；利用人类基因数据库(GeneCards 数据库 <https://www.genecards.org/>)以 Glioma 和 Brain glioma 为关键词、疾病基因相关分数大于等于 10 筛选收集胶质瘤靶基因，合并去重以上两数据，所得基因作为胶质瘤靶基因。

#### 2.1.3. 收集扶正抑瘤汤与胶质瘤交集靶基因

在维恩平台 2.1.0 (Venny 平台 <https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)分别导入步骤 2.1.1 和 2.1.2 所得数据获取扶正抑瘤汤与胶质瘤靶基因交集并绘制维恩图。

### 2.2. 分析数据

#### 2.2.1. 分析获得胶质瘤发病关键靶基因

利用蛋白质相互作用网络功能富集分析数据库 11.0 (String 数据库 <https://string-db.org/>)分析疾病基因相关分数降序排列前 100 位的胶质瘤靶基因蛋白互作网络(PPI network)，筛选出证据可信、最小互作分数大于 0.7、最大互作蛋白数小于 50 的蛋白质，经网络数据集成、分析和可视化软件 Cytoscape3.8.2 软件 CytoHubba 插件计算节点中心度，以中心度值大于中位值降序排列前 10 位的靶基因作为胶质瘤发病的关键靶基因。

#### 2.2.2. 分析获得扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的关键靶基因

将方剂疾病交集基因导入 String 数据库，筛选证据可信、最小互作分数大于 0.7、最大互作蛋白数小于 50 的蛋白质，利用 CytoHubba 插件计算节点中心度并输出蛋白互作网络图，以中心度值大于中位值降序排列前 11 位的基因作为扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的关键靶基因。

#### 2.2.3. 分析获得扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的关键药物有效成分

利用 CytoHubba 插件分析扶正抑瘤汤有效成分与中心度值前 50 顺位的方剂疾病交集基因之间的关系网络并计算节点中心度，中心度值较高者确定为扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的关键有效成分。

#### 2.2.4. 扶正抑瘤汤治疗胶质瘤功能富集分析

利用大卫生物信息资源数据库 6.8 (DAVID 数据库 <https://david.ncifcrf.gov/>)对方剂疾病交集基因进行基因本体分析(GO 分析)，以 *P* 值、FDR 值均小于 0.05、基因计数降序排列前 5 位筛选获得扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的主要生物功能并使用 GraphPad Prism8 软件绘图。

利用京都基因和基因组百科全书(KEGG 数据库 <https://www.genome.jp/kegg/>)对方剂疾病交集基因作通路分析，找出关键靶基因对应的通路作为扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的主要通路。

### 2.3. 构建扶正抑瘤汤治疗胶质瘤作用机制网络图

深入分析总结前 7 步获得的数据，将方剂 - 有效成分、有效成分 - 靶基因、KEGG 通路 - 靶基因三

组对应数据导入 Cytoscape, 绘制扶正抑瘤汤治疗胶质瘤作用机制网络图。

### 3. 结果

#### 3.1. 资料收集结果

##### 3.1.1. 获得扶正抑瘤汤有效成分及靶基因

通过 TCMSP 数据库筛选收集到扶正抑瘤汤有效成分共 17 个(见表 1), 分别是红芪 13 个、当归 2 个、莪术 1 个、墓头回 1 个, 其中当归和墓头回的有效成分均与红芪重合, 去重后余 14 个有效成分, 对应 216 个靶基因。

**Table 1.** Active ingredients list of Fuzheng Yiliu Decoction

**表 1.** 扶正抑瘤汤有效成分表

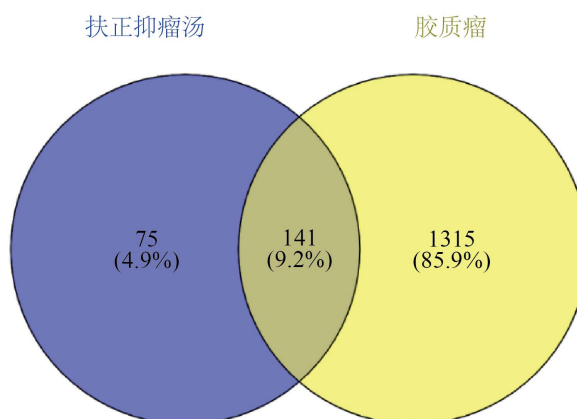
中药名	有效成分 ID	有效成分英文名	有效成分中文名	OB	DL
红芪	MOL000358	beta-sitosterol	植物甾醇	36.91	0.75
	MOL000449	Stigmasterol	豆甾醇	43.83	0.76
	MOL000098	quercetin	槲皮素	46.43	0.28
	MOL011076	(+)-Medicarpin	美迪紫檀素	60.46	0.34
	MOL011078	3',7-dihydroxy-4'-methoxy-isoflavone	3',7-二羟基-4'-甲氧基-异黄酮	50.7	0.24
	MOL001792	DFV	食脂素	32.76	0.18
	MOL000392	formononetin	芒柄花黄素	69.67	0.21
	MOL000417	Calycosin	毛蕊异黄酮	47.75	0.24
	MOL004328	naringenin	柚皮素	59.29	0.21
	MOL004941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one	甘草素	71.12	0.18
	MOL000500	Vestitol	维斯体素	74.66	0.21
	MOL005575	Gentianaquin	龙胆山酮	72.82	0.27
	MOL008173	daucoosterol_qt	胡萝卜苷	36.91	0.75
当归	MOL000358	beta-sitosterol	植物甾醇	36.91	0.75
	MOL000449	Stigmasterol	豆甾醇	43.83	0.76
莪术	MOL000296	hederagenin	常春藤素	36.91	0.75
墓头回	MOL000098	quercetin	槲皮素	46.43	0.28

##### 3.1.2. 获得胶质瘤靶基因

通过 DisGeNET 数据库筛选到胶质瘤靶基因 71 个, 通过 GeneCards 数据库以 Glioma 为关键词筛选到胶质瘤靶基因 149 个, 以 Brain Glioma 为关键词筛选到靶基因 1456 个, 两个数据库合并去重获得胶质瘤靶基因 1456 个。

##### 3.1.3. 获得扶正抑瘤汤与胶质瘤交集靶基因

利用 Venny 平台绘制扶正抑瘤汤与胶质瘤靶基因交集图(见图 1), 获得 141 个方剂疾病交集基因。



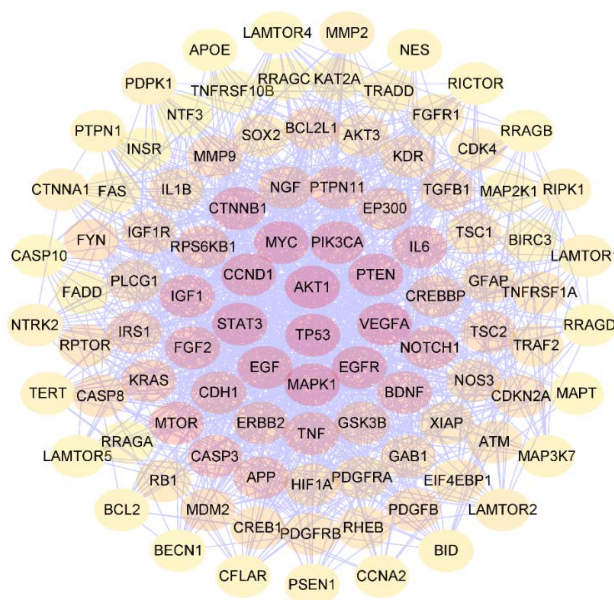
**Figure 1.** Venn diagram of intersection genes of Fuzheng Yiliu Decoction and glioma

**图 1.** 扶正抑瘤汤与胶质瘤交集基因维恩图

## 3.2. 数据分析结果

### 3.2.1. 发现胶质瘤发病关键靶基因

Cytoscape 绘制胶质瘤发病靶基因蛋白互作网络图(见图 2)，节点颜色越深中心度值越高，取中心度值大于中位值前 10 顺位的靶基因作为胶质瘤发病关键靶基因，分别是 AKT1、p53、VEGFA、MAPK1、STAT3、MYC、PTEN、CCND1、PIK3CA、EGF。



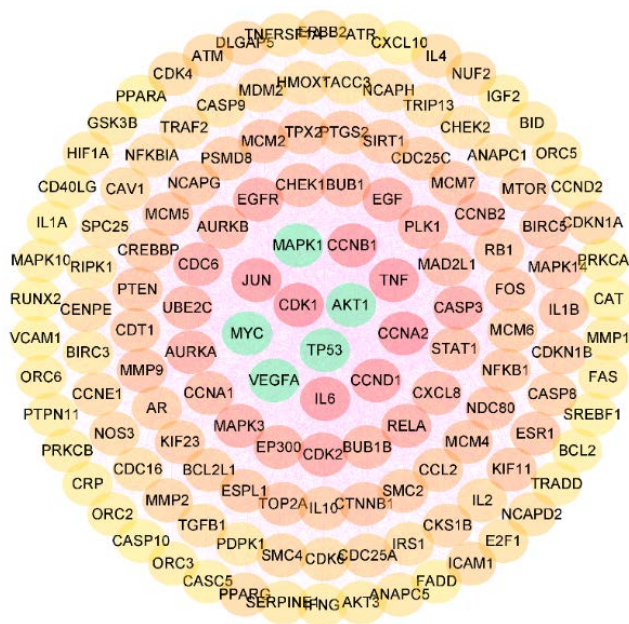
**Figure 2.** Protein-Protein interaction network of target gene in glioma

**图 2.** 胶质瘤发病靶基因蛋白互作网络图

### 3.2.2. 发现扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的关键靶基因

Cytoscape 绘制方剂疾病交集基因蛋白互作网络图(见图 3)，节点颜色越深中心度值越高，取中心度值大于中位值前 11 顺位的基因作为扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的关键靶基因(见表 2)，其中有 5 个治疗关键靶

基因与胶质瘤发病关键基因吻合，标记为绿色，分别为 p53、AKT1、MYC、MAPK1、VEGFA。



**Figure 3.** Protein-Protein interaction network of intersection gene between Fuzheng Yiliu Decoction and glioma

**图 3.** 扶正抑瘤汤与胶质瘤交集基因蛋白互作网络图

**Table 2.** Key target genes of Fuzheng Yiliu Decoction in treating glioma

**表 2.** 扶正抑瘤汤治疗胶质瘤关键靶基因

靶基因	对应靶蛋白	蛋白功能
p53	细胞肿瘤抗原 p53	编码包括转录激活、DNA 结合和寡聚结构域的抑癌蛋白
AKT1	苏氨酸蛋白激酶	调控细胞增殖和生长，参与细胞凋亡和葡萄糖代谢
CDK1	周期蛋白依赖性激酶	一组丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，与细胞周期蛋白协同调控细胞周期
CCNA2	细胞周期蛋白 A2	随细胞周期同步升降浓度，与 CDK 结合调节 CDK 酶活性协调细胞周期
TNF	肿瘤坏死因子	由活化的巨噬细胞、NK 细胞和 T 淋巴细胞产生，杀伤或抑制肿瘤细胞，增强免疫
CCNB1	细胞周期素 B1	和 CDK 结合调节其酶活性协调细胞周期
IL6	白细胞介素-6	由活化的 T 细胞和成纤维细胞产生的淋巴因子，增强自然杀伤细胞的裂解功能，促进原始骨髓源细胞的生长和分化
JUN	转录因子 AP-1	与 RNA 聚合体 II 形成转录起始复合体，参与转录起始
MYC	Myc 原癌基因蛋白	编码与细胞周期调控有关的核内 DNA 结合蛋白，促进细胞增殖、永生化和去分化和转化
MAPK1	丝裂原活化蛋白激酶 1	一组丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，从细胞表面传导信号到细胞核内部
VEGFA	血管内皮生长因子 A	促进血管通透性增加、细胞外基质变形、血管内皮细胞迁移、增殖和血管形成

### 3.2.3. 发现扶正抑瘤汤治疗胶质瘤发挥作用的关键药物有效成分

用 CytoHubba 分析方剂有效成分与中心度值前 50 顺位的方剂疾病交集基因之间的网络关系并输出网

络分析图(见图 4), 节点颜色越深, 代表方剂组分发挥作用越关键, 其中左侧顺位排列的 11 个节点为扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的关键靶基因, 绿色是和胶质瘤发病关键靶基因吻合的 5 个靶基因节点, 图中深紫色节点红芪槲皮素(querctin)与关键靶基因连线最多, 中心度值最大, 取中心度值降序前 3 位作为扶正抑瘤汤治疗胶质瘤的关键有效成分, 槲皮素(querctin)、柚皮素(naringenin)、芒柄花黄素(formononetin), 均为红芪所含有效成分。

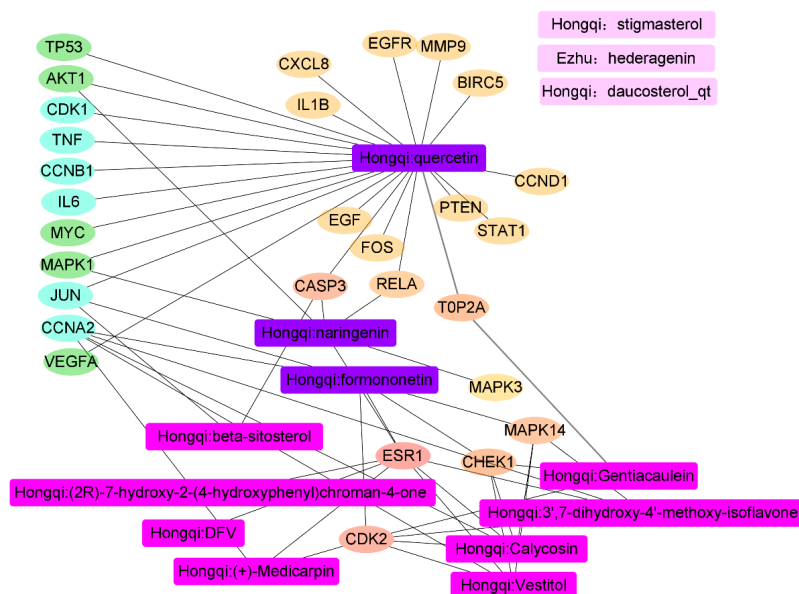


Figure 4. Network analysis diagram of the key active components of Fuzheng Yiliu Decoction in treating glioma

图 4. 扶正抑瘤汤治疗胶质瘤关键有效成分网络分析图

### 3.2.4. 扶正抑瘤汤治疗胶质瘤主要功能富集

DAVID 数据库方剂疾病交集基因 GO 分析结果(见图 5)显示扶正抑瘤汤主要通过促进 RNA 聚合酶 II 启动子转录、DNA 转录、信号转导等生物学过程在细胞组份上发挥蛋白结合、酶结合、ATP 结合等分子功能治疗胶质瘤。

KEGG 数据库分析方剂疾病交集基因获得 263 条相关通路, 筛选与扶正抑瘤汤治疗胶质瘤关键靶基因有关的 15 条通路列表(见表 3), 可见扶正抑瘤汤可能通过 PI3K/Akt 通路、MAPK 通路、Ras 通路、p53 通路、Ca 离子通路、VEGF 信号通路等多条通路发挥功效。

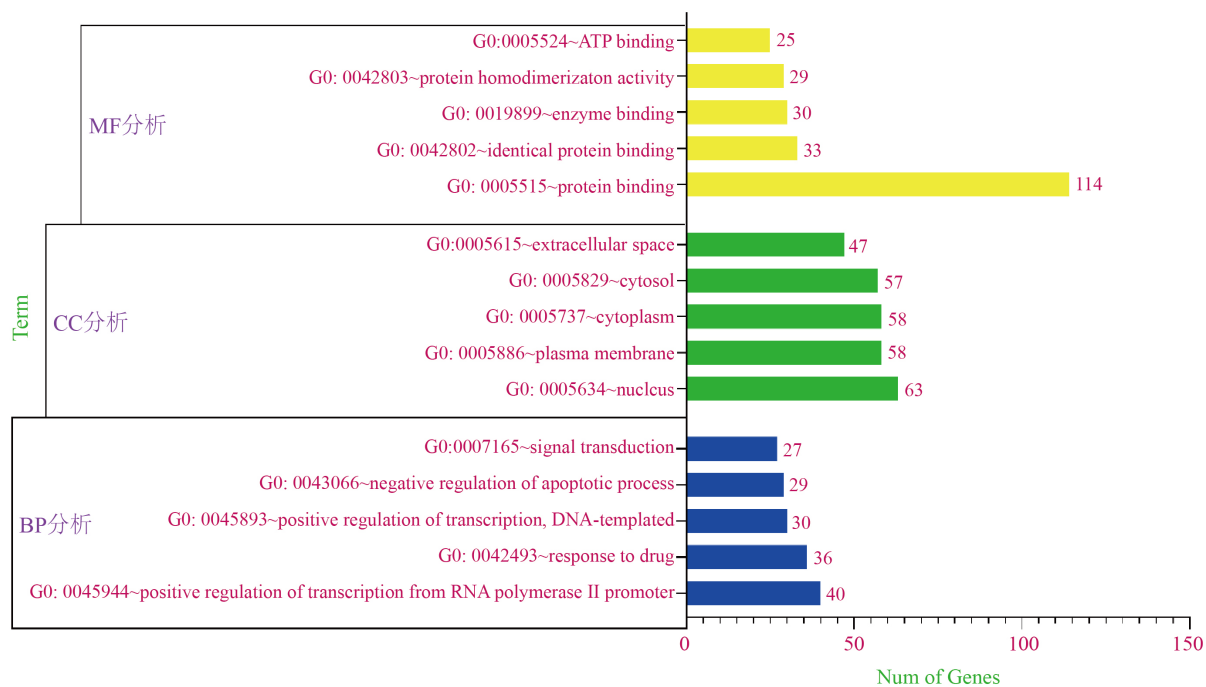
Table 3. KEGG pathway table

表 3. KEGG 通路列表

KEGG 通路英文名	KEGG 通路中文名	含有的关键靶基因通路
hsa05200 Pathways in cancer (57)	癌症通路	Ca; MAPK; PI3K/Akt; p53; VEGF
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway (33)	PI3K-Akt 信号通路	p53; MAPK; VEGF
hsa04010 MAPK signaling pathway (27)	MAPK 通路	p53; TNF
hsa04218 Cellular senescence (26)	细胞衰老	Ca; p53
hsa04657 IL-17 signaling pathway (23)	IL-17 信号通路	MAPK

Continued

hsa04668 TNF signaling pathway (22)	肿瘤坏死因子信号通路	MAPK; PI3K/Akt
hsa04210 Apoptosis (21)	细胞凋亡	Ga; MAPK-PI3K/Akt; p53; TNF
hsa01521 EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance (18)	EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药性	MAPK; PI3K/Akt
hsa04014 Ras signaling pathway (17)	Ras 信号通路	Ca; MAPK; PI3K/Akt
hsa04115 p53 signaling pathway (17)	p53 信号通路	p53
hsa05202 Transcriptional misregulation in cancer (17)	癌症中的转录失调	p53
hsa05214 Glioma (15)	神经胶质瘤	Ca-MAPK; p53; PI3K/Akt
hsa04020 Calcium signaling pathway (14)	钙信号通路	MAPK
hsa04110 Cell cycle (14)	细胞周期	c-Myc-p53; MAPK-CDK1
hsa04370 VEGF signaling pathway (13)	VEGF 信号通路	PI3K/Akt; VEGF-Ca-MAPK



**Figure 5.** Gene Ontology analysis of Fuzheng Yiliu Decoction in treating glioma

**图 5.** 扶正抑瘤汤治疗胶质瘤基因本体分析结果

### 3.3. 构建扶正抑瘤汤治疗胶质瘤作用机制网络图

综合分析前 7 项数据, 通过 Cytoscape 构建 4 味中药、14 个有效成分、141 个交集靶基因、15 条通路连结而成的扶正抑瘤汤治疗胶质瘤作用机制网络图(见图 6), 由图可知红芪 13 条有效成分最多, 墓头回有效成分与红芪关键有效成分槲皮素(MOL000098)重合, 当归有效成分与红芪有效成分豆甾醇(MOL00049)、植物甾醇(MOL000358)重合, 莪术有自己独有的有效成分常春藤素(MOL000296), 四种中药组成扶正抑瘤汤, 通过多条通路, 多个靶点发挥综合治疗胶质瘤功效。



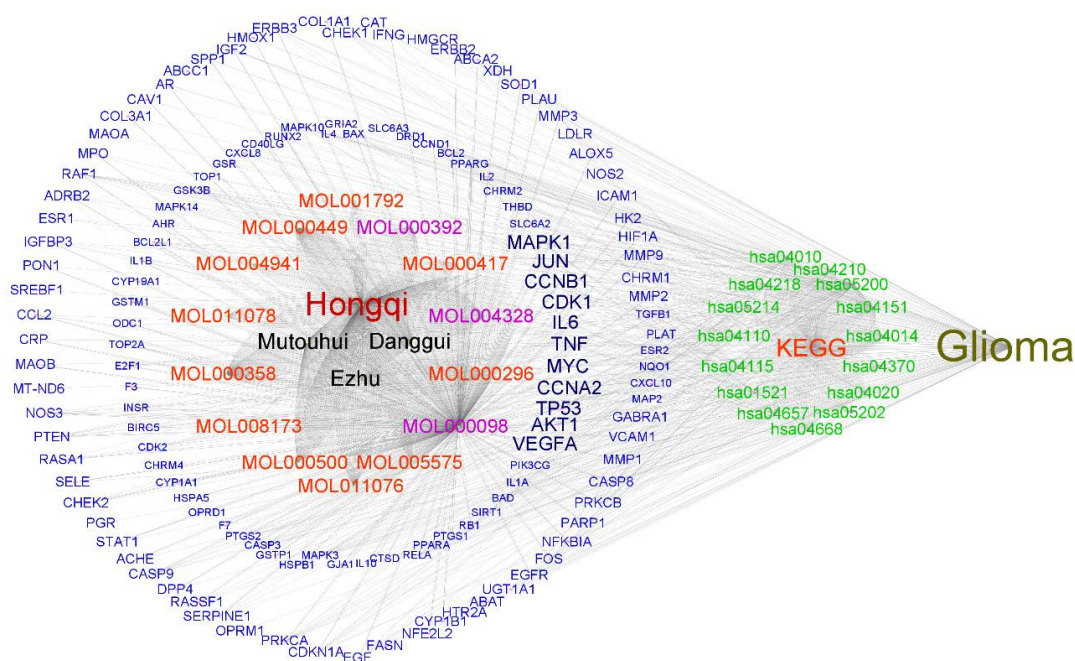


Figure 6. Network diagram of Fuzheng Yiliu Decoction in treating glioma

图 6. 扶正抑瘤汤治疗胶质瘤作用机制网络图

#### 4. 讨论

肿瘤分子靶向疗法较手术治疗、放疗化疗等副作用更小，疗效更佳。骨髓间充质干细胞(BMSCs)是肿瘤生物治疗的理想载体，在肿瘤组织中具有较好的归巢作用，但其成瘤性、迁移性也是它临床应用安全性的壁垒所在。扶正抑瘤汤协同白细胞介素 12 (IL-12)基因修饰的 BMSCs 具有抗裸鼠胶质瘤作用[3]，且含药血清对胶质瘤微环境下 BMSCs 增殖具有抑制作用，但不影响其肿瘤定位能力，这些发现为扶正抑瘤汤联合 BMSCs 靶向治疗胶质瘤提供可能[4]。

通过此次研究进一步明确扶正抑瘤汤对胶质瘤的作用机制，发现方剂关键有效成分。本研究发现扶正抑瘤汤中红芪有效成分最多，所含槲皮素、柚皮素、芒柄花黄素为方剂治疗胶质瘤的关键有效成分，三者均为红芪所含黄酮类化合物，其中槲皮素几乎对应所有方剂治疗胶质瘤的关键靶基因，位列有效成分之首。实验研究证明槲皮素可通过抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡显著抑制大鼠颅内 C6 胶质瘤细胞生长[5]；桑东平等研究显示槲皮素可以通过抑制热休克蛋白 27 (Hsp27)增强胶质母细胞瘤细胞对标准化疗药物替莫唑胺(TMZ)的敏感性[6]；也可以通过槲皮素预处理，提高胶质瘤祖细胞自噬活性，增强瘤细胞对放疗照射的敏感性[7]；槲皮素还具有促进免疫器官功能恢复、提高机体抗氧化水平的功能[8]，这些证据都充分说明槲皮素在治疗胶质瘤中的重要地位。

柚皮素抑瘤机制也有相关研究支持，柚皮苷可以通过抑制磷酸肌醇三激酶(PI3K)的磷酸化抑制胶质瘤细胞生长，大约有 70%的胶质瘤发现 PI3K 的异常激活，而较低浓度的柚皮苷即可抑制 PI3K 活化水平，并对其下游苏氨酸蛋白激酶(Akt)的磷酸化水平发挥抑制作用[9]。齐冰丽等[10]发现柚皮素通过 PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 通路可影响下游线粒体途径中抑凋亡蛋白(Bcl-2)和促凋亡蛋白(Bax)的表达，调节卵巢癌细胞增殖与凋亡，这一结果与本研究所得方剂治疗胶质瘤的关键通路和靶基因类似。

应用芒柄花黄素开发抗癌药物也有诸多进展，一些经典肿瘤信号通路均被证明是芒柄花黄素的作用靶点[11]，在乳腺癌裸鼠模型中芒柄花黄素作为成纤维细胞生长因子受体 2 抑制剂(FGFR2)，能阻断

FGFR2 介导的 PI3K/Akt 信号通路[12], 降低肿瘤细胞活性; 芒柄花黄素具有抗血管生成潜能, 抑制血管内皮细胞生长因子活性[13]; 芒柄花黄素还可以降低多药耐药(MDR)的发生, 显著增强替莫唑胺对胶质瘤 C6 细胞的化疗疗效[14]。

当归所含 2 个有效成分均为植物甾醇, 能显著增加荷瘤小鼠巨噬细胞吞噬率, 具有一定的免疫调节作用[15]; 莪术具有活血化瘀之功效[16], 所含 1 个有效成分为三萜皂苷类化合物常春藤素; 墓头回虽然仅含 1 个有效成分, 但与红芪槲皮素重合, 协同增强红芪抑瘤作用。

至此, 可以明确红芪在扶正抑瘤汤治疗胶质瘤中的君药地位, 当归、墓头回有效成分与红芪重合辅助君药抑瘤应为臣药, 莪术调和诸药, 针对兼病起扶正功效。四味中药君臣有序、四象平衡共同发挥扶正祛邪, 益气养阴之用, 这也进一步验证了经验方中红芪、当归、莪术、墓头回 3:1:1:3 配伍方案的科学性。

本次探索研究还发现扶正抑瘤汤通过 PI3K/Akt 通路、MAPK 通路、p53 通路、Ras 通路、VEGF 通路等多条通路作用于 AKT1、MAPK1、p53、VEGFA 等多个靶基因发挥治疗作用。证据表明神经纤维蛋白 1 (NF1)和肿瘤抑制蛋白 p53 (p53)的缺失增强了胶质瘤的形成, NF1 可以抑制 Ras/MAPK 通路活性, 降低细胞重现性[17]。Ras-Raf-MAPK 通路在受到细胞外信号刺激后相继激活癌基因 Ras、丝/苏氨酸激酶 (Raf-1)、MAPK 激酶最终激活 MAPK, 被激活的 MAPK 转至细胞核内激活转录因子调节细胞增殖、转化和凋亡。辛艳超等[18]研究显示 p38MAPK 在胶质瘤中的异常表达随胶质瘤病理级别升高而逐渐增强, 闻公灵等研究也证实, miR-206 可靶向结合 MAPK1 抑制该通路活性调节胶质瘤细胞放射敏感性[19]。

p53 为抑癌基因, 编码 p53 肿瘤蛋白调节细胞周期。孙晓玲等[20]对 90 例原发性星形细胞瘤患者临床病理资料整理分析发现, p53 在星形细胞瘤组织中阳性率为 58.89%显著高于正常脑组织, 且瘤体越大、恶性程度越高阳性率越高, p53 阳性患者的生存期也均短于阴性表达患者。p53 的突变与染色质重塑调节因子 ATRX 失活显著相关, ATRX 突变激活端粒延长替代机制(ALT), 是肿瘤中一种不依赖于端粒酶活性的端粒长度维持机制[21]。

c-Myc 是典型的促癌基因, 参与调控细胞周期、细胞分化和凋亡。老年脑胶质瘤组织中 c-Myc 蛋白的阳性率为 59.6%且与病理分化显著相关, 较正常脑组织阳性率差异显著[22]。王宸等研究提示冬凌草可能通过 Hippo 信号通路促进转录共激活因子相关蛋白(YAP)磷酸化下调进入细胞核的 YAP 量进而减少下游 c-Myc 的表达发挥抗癌作用[23]。

VEGF 信号通路靶向药物肿瘤治疗是近年来研究的热点, 脑胶质瘤组织中 VEGF 表达水平异常升高与肿瘤微血管形成紧密相关[24], 榄香烯联合 VEGF 多克隆抗体有助于抑制脑胶质瘤体组织生长[25]。

尽管此次论文结果有诸多理论数据支持, 但由于靶基因和相关通路是基于网络药理学预测获得, 扶正抑瘤汤在具体应用过程中的实际通路和效应还需进一步利用分子对接、人群差异表达分析、实验研究、临床观察等方法验证。

## 5. 结论

综上所述, 扶正抑瘤汤以红芪为方剂之首, 四组分合理配伍; 以黄酮类化合物为有效成分之首, 多成分协同增效; 通过 AKT1、MAPK、p53、VEGF、MYC 等多条靶基因相关通路综合发挥胶质瘤治疗作用。

## 基金项目

2022 年甘肃中医药大学研究生创新创业基金(2022CX69)。

## 参考文献

- [1] 吴建军, 许瑞, 张艳霞, 等. 扶正抑瘤汤对胶质瘤裸鼠肿瘤生长抑制的影响[J]. 中成药, 2020, 42(3): 620-625.
- [2] 吴建军, 曾龙, 刘永琦, 等. 扶正抑瘤方对胶质瘤微环境下 BMSC 端粒酶及 P53 表达的影响[J]. 中国中医药科技, 2017, 24(1): 19-23.
- [3] Wu, J.J., Xie, S.P., Li, H.L., *et al.* (2021) Antitumor Effect of IL-12 Gene-Modified Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Combined with Fuzheng Yiliu Decoction in an *in Vivo* Glioma Nude Mouse Model. *Journal of Translational Medicine*, **19**, 143. <https://doi.org/10.1186/s12967-021-02809-2>
- [4] 曾龙, 马占军, 吴建军, 等. 扶正抑瘤汤含药血清对胶质瘤环境下骨髓间充质干细胞增殖、周期和凋亡的影响[J]. 兰州大学学报(医学版), 2016, 42(5): 7-13.
- [5] 郭二坤, 郝亮, 梁朝辉, 等. 槲皮素对大鼠脑胶质瘤抑瘤作用的体内实验研究[J]. 中国神经疾病杂志, 2012, 38(2): 83-86.
- [6] Sang, D.P., Li, R.J. and Lan, Q. (2014) Quercetin Sensitizes Human Glioblastoma Cells to Temozolomide *in Vitro* via Inhibition of Hsp27. *Acta Pharmacologica Sinica*, **35**, 832-838. <https://doi.org/10.1038/aps.2014.22>
- [7] 陈列松, 季文君, 庄文卓, 等. 槲皮素对胶质瘤干/祖细胞的辐射致敏作用及其机制的初步探讨[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2012, 30(5): 297-302.
- [8] 陈龙云, 周艳艳, 徐安莉, 等. 槲皮苷对免疫功能低下小鼠的免疫调节作用[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 19(8): 2343-2349.
- [9] 王维, 赵子龙, 高伟, 等. 柚皮苷对胶质瘤细胞生长的抑制作用的机制研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2020, 37(9): 815-818.
- [10] 齐冰丽, 黄平, 颜瑞雪, 等. 柚皮素通过 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 通路抑制卵巢癌细胞增殖和侵袭、诱导凋亡作用的研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2019, 24(11): 1234-1241.
- [11] Park, S., Bazer, F.W., Lim, W., *et al.* (2018) The O-methylated Isoflavone, Formononetin, Inhibits Human Ovarian Cancer Cell Proliferation by Sub G0/G1 Cell Phase Arrest through PI3K/AKT and ERK1/2 Inactivation. *Journal of Cellular Biochemistry*, **119**, 7377-7387. <https://doi.org/10.1002/jcb.27041>
- [12] Wang, A.L., Li, Y., Zhao, Q., *et al.* (2018) Formononetin Inhibits Colon Carcinoma Cell Growth and Invasion by microRNA149 Mediated EphB3 Downregulation and Inhibition of PI3K/AKT and STAT3 Signaling Pathways. *Molecular Medicine Reports*, **17**, 7721-7729. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8857>
- [13] 王茹月, 叶雨. 芒柄花黄素应用于抗肿瘤药物开发的研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2019, 46(2): 183-187.
- [14] Zhang, X., Ni, Q., Wang, Y., *et al.* (2018) Synergistic Anticancer Effects of Formononetin and Temozolomide on Glioma C6 Cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **41**, 1194-1202. <https://doi.org/10.1248/bpb.b18-00002>
- [15] 陈茂彬, 黄琴, 干信, 等. 植物甾醇油酸酯对荷瘤小鼠免疫调节作用研究[J]. 武汉理工大学学报, 2005, 27(3): 46-48.
- [16] 谯明鸣, 熊亮, 刘宇, 等. 姜黄与莪术活血功效差异的物质基础研究[J]. 世界科学技术中医药现代化, 2020, 22(7): 2531-2539.
- [17] da Rosa, M.M. (2020) Communication of Glioma Cells with Neuronal Plasticity: What Is the Underlying Mechanism? *Neurochemistry International*, **141**, Article ID: 104879. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2020.104879>
- [18] 辛艳超, 刘献志, 翟广, 等. PTEN、p38MAPK 在人脑胶质瘤中的表达及意义[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(21): 2310-2312.
- [19] 闻公灵, 张保朝, 万里新, 等. miR-206 靶向 MAPK-1 通路增强胶质瘤细胞放射敏感性[J]. 中华放射肿瘤学, 2016, 25(7): 759-763.
- [20] 孙晓玲, 张晓娟, 张清泉, 等. 原发星形细胞瘤中 TP53、PDGF、EGFR 的表达及与临床病理特征和预后的相关性[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(2): 154-158.
- [21] 茆晨雪, 周宏灏, 刘昭前, 等. 弥漫性胶质瘤生物标志物的发现及研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学杂志, 2016, 21(1): 93-98.
- [22] 李培栋, 王新军, 单峤, 等. CIP2A 及 c-Myc 在老年胶质瘤中的表达及相关性[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(2): 309-310.
- [23] 王宸, 陈爽, 马晓娇, 等. YAP-c-Myc 信号通路抑制涉及冬凌草甲素抗神经胶质瘤作用[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(3): 403-409.
- [24] 符黄德, 罗起胜, 邓元央, 等. 肝癌衍生生长因子和血管内皮生长因子在脑胶质瘤中的表达及其与肿瘤微血管

密度的相关性研究[J]. 中国全科医学, 2016, 17(19): 2019-2023.

- [25] 徐静波, 李英夫, 何伟铭, 等. 榄香烯和 VEGF 多克隆抗体联合应用对 C6 胶质瘤增殖的抑制作用[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(12): 1072-1074.