

# 基于网络药理学探讨四君子汤 “异病同治”原发性肝癌与 胃癌的作用机制

李锦湘

湖北中医药大学第一临床学院, 湖北 武汉

收稿日期: 2023年5月4日; 录用日期: 2023年6月21日; 发布日期: 2023年6月30日

## 摘要

目的: 基于网络药理学研究四君子汤“异病同治”原发性肝癌与胃癌的通路及途径。方法: 获得经方四君子汤活性成分, 其通过TCMSP知识库, 再利用Uniprot蛋白质元数据库转换所需的靶点基因。本文研究仅选用了四大数据库, 其中数据库为TTD、GeneCards、DrugBank及OMIM, 处理此四个数据库数据相互增补原发性肝癌(Primary liver cancer, PLC)和胃癌(Gastric cancer, GC)疾病关键靶向基因, 再引用JVENN网站绘制韦恩图, 得到处理后韦恩图具体数据, 再通过Cytoscape 3.9.1软件工具构建“药物-活性成分-靶点-疾病”关系网络图。再进一步利用STRING数据库, 输入数据中得到的关键靶向点, 绘制蛋白质相互关系图(PPI), 再次使用Cytoscape 3.9.1软件中的扩展程序中的相关指标值(度值, degree; 介数, Betweenness), 将PPI的核心靶点与靶向预测进行分析。最后就是进行基因本体(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析, 同样在DAVID数据库帮助下对上述处理后得到的数据分析。结果: 本文研究中的经方经过数据重重筛选, 治疗异病PLC与GC的有效成分和目标靶向点分别是114个和106个, 而较相关的关键靶点经degree值排名前八有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT1)、肿瘤抑制基因P53 (TP53)、血管内皮生长因子A (VEGFA)、胱天蛋白酶3 (CASP3)、肿瘤坏死因子(TNF)、核蛋白类癌基因(MYC)、前列腺素内过氧化物合酶2 (PTGS2)、白细胞介素-1 $\beta$  (IL1B)。在基因本体中生物功能的富集分析重点显示了基因表达正向调控方面上显著为高通路, 同时也反映在药物反应及转录DNA模板正向调控的重要性信号通路。结论: 本文基于中医理论与网络药理学的研究表明, 经方四君子汤异病同治PLC、GC是多通路、多途径、多靶点的极为复杂过程, 主要通过参与细胞的基因正向表达、转录DNA表达、药物反应、多种相关酶的调控等发挥治疗疾病的作用。

## 关键词

四君子汤, 原发性肝癌, 胃癌, 网络药理学, 异病同治, 靶点, 信号通路

# Exploring the Mechanism of Sijunzi Decoction of “Treating Different Diseases with the Same Method” in Treating Primary Liver Cancer and Gastric Cancer Based on Network Pharmacology

Jinxiang Li

The First Clinical College, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan Hubei

Received: May 4<sup>th</sup>, 2023; accepted: Jun. 21<sup>st</sup>, 2023; published: Jun. 30<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

**Objective:** To study the Mechanism of Action of Sijunzi Decoction on “Same Treatment for Different Diseases” in Primary Liver Cancer and Gastric Cancer Based on Network Pharmacology. **Method:** We get the active ingredients of Sijunzi Decoction, use the TCMSP knowledge base and then use the Uniprot Protein Element database to convert the necessary target genes. This study selected only four major databases, including TTD, GeneCards, DrugBank and OMIM, which were processed to supplement the major target genomes of primary liver cancer (PLC) and stomach cancer (GC), and then used the JVENN website to draw Wayne maps. After processing specific data from the Wayne map, the software tool Cytoscape 3.9.1 was used to create a network diagram of “drug-active-target-disease. Next, we use the STRING database to enter the most important target points obtained from the data, create a Protein Interaction Chart (PPI) and analyze the most important PPI target points with target predictions again with the corresponding indicator values (degree, precipitation, median, Bedouin) in the Cytoscape 3.9.1 software extension. Finally, it includes gene concentration analysis (GO) and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), as well as data obtained through analysis and processing by the David database. **Result:** In this study, the menstrual diet was carefully validated against data. The active ingredients and targets for the treatment of heterogeneous PLC and GC were 114 and 106 respectively. The more relevant key targets were evaluated using the first eight degrees of serine/sulfate kinase (AKT1), namely the tumor suppressor gene P53 (TP53), Endothelial growth factor A (VEGFA), vesicular protease 3 (CASP3), tumour necrosis factor TNF, nucleic acid oncogen (MYC) and interleukin-1 $\beta$  (IL1B). Analysis of the concentration of biological functions in the genome shows that gene expression in positive regulation is significantly higher, which is also reflected in important signaling pathways that positively regulate drug response and DNA transcription patterns. **Conclusion:** Based on the theory of traditional Chinese medicine and research of network pharmacology, this article points out that PLC and GC are extremely complex processes with multiple pathways, channels and applications that are mainly involved in positive expression of cellular genes, transcription of DNA expression, and drug reactions. It regulates and controls various related enzymes to exert therapeutic effects on disease.

## Keywords

Sijunzi Decoction, Primary Liver Cancer, Gastric Cancer, Network Pharmacology, Same Treatment for Different Diseases, Target Points, Signal Pathway



## 1. 引言

原发性肝癌(Primary liver cancer, PLC)中肝细胞癌(HCC)是最高概率的(80%~90%),其次是胆管癌(CCA)发病率(10%~15%),HCC与CCA是在PLC中占比较为重要的,也是研究中的重点方向[1]。肝癌是慢性炎症反应所致坏死细胞,以及病毒感染,其中包括乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV),及代谢性肝癌等诸多不利原因下病因的疾病[2][3]。而胃癌(Gastric cancer, GC)在癌症中发病率仍是全球第五,致死率第二,而幽门螺旋杆菌则是致病的主要因素[4]。原发性肝癌与胃癌在传统医学中都有相应记载,中医学上根据症状和体征辩证,属“肝癌病”、“肝积”、“黄疸”、“鼓胀”等范畴,其病因病机也是极为复杂,脏腑经络之间都互相牵连,可由肝生理功能出发辩证肝气郁结、肝脾两虚、气滞血瘀、肝胆湿热等[5]。胃癌则属中医范畴中的“噎膈”、“积聚”、“胃脘痛”等,临床辩证可分为:肝胃不和、痰湿郁结、脾胃虚寒、胃阴不足等证型[6]。四君子汤属于中医经典方药,补气之基础,药物配伍之缓和,多甘温之性,医篇古文记“人受气于谷,谷入于胃,以传于肺,五脏六腑皆以受气”,调理脾胃之气,则肝脾条达,木土相合,五行相生转化运动得以运行。诸多学者对四君子汤颇有研究,如张艳梅[7]学者认为四君子汤对脾胃气虚证患者在临床治疗中有显著疗效,研究组(47例)SDS、SAS及复发率均低于对照组(观察指标P值均小于0.05),对经方运用十分认可,其临床实用价值值得推广。李紫瑞[8]等则从疏肝健脾,补土荣木之法来研究肝癌的科学方法发展新的思维与方向。本文研究主要是通过药理学探讨经方四君子汤药物对PLC、GC的共同靶点以及关键通路作用的机制。

## 2. 方法

### 2.1. 化学成分收集

运用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>),检索词为经典医著《伤寒论》中四君子汤中的药物成分:白术、茯苓、甘草、人参。利用TCMSP药代动力学参数中的口服生物利用度(Oral bioavailability,  $OB \geq 30\%$ )以及类药性(Drug-likeness,  $DL \geq 0.18$ ),收集限定后且符合有效数据,对收集的候选数据进行整理,再利用Uniprot蛋白质知识库(<https://www.uniprot.org/>)将数据转换,设置物种条件(homo sapiens),数据用于后续分析。

### 2.2. PLC与GC相关靶点筛选

利用检索词“Primary liver cancer”、“PLC”、“primary carcinoma of liver”以及“Gastric cancer”,在TTD数据库(<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd>)、GeneCards数据库(<https://www.genecards.org>)、DrugBank数据库(<https://go.drugbank.com>)、OMIM数据库(<http://www.omim.org>)四个数据库中的PLC与GC的潜在靶点,四个数据库相关靶点可相互补充,剔除重复值,最后整理得到PLC、GC的两个疾病靶点。

### 2.3. “药物-活性成分-靶点-疾病”相互作用网络构建与分析

整理上述2.1、2.2步骤得到数据,利用jvenn网站(<http://jvenn.toulouse.inra.fr/app/index.html>)绘制四君子汤药物活性成分靶点与PLC、GC疾病靶点的韦恩图,即可得到四君子汤药物活性成分靶点和PLC、GC疾病靶点的交集结果,在进行整体数据合并整理后的文件导入Cytoscape 3.9.1软件,创建并可视化处理,得到四君子汤与PLC、GC“同病异治”的网络关系图。应用该平台的网络分析插件模块进行网络分析。

## 2.4. 四君子汤与 PLC 与 GC 相关靶点蛋白质相互作用(PPI)网络构建

STRING 是目前常用的蛋白质 - 蛋白质相互作用的数据库, 收录了多种途径的数据, 并利用多种方法显示蛋白质之间的相互作用。将“药物 - 疾病”交集靶点导入 STRING 数据库, 设置限定物种(Homo sapiens), 相关设置保持原有, 得到四君子汤作用于 PLC、GC 的 PPI 网络。

导出的文件(string\_interactions\_short.tsv)导入 Cytoscape 3.9.1 软件中, 运用网络分析中扩展程序功能, 进行数据分析, 得出“节点度值分布”“介数中心性”。度值(Degree)为节点与余节点相互连接的条数, 客观显示出节点与节点相互作用, 即数目越高值越大也表明越重要; 而介数(Betweenness)是关系图中所有捷径节点与此节点路径的数值占比捷径总值的比数, 即节点经过捷径路径数越多, Betweenness 越大。Degree 和 Betweenness 是数据化图一个节点在关系网中的重要拓扑参数, 其重要性转为二者值越大越重要, 另一层次关系网络图分析可表明二者是对网络药理研究预测靶点的方向, 也是药物在作用机制中的重要观察参数。

## 2.5. 药物活性成分-PLC、GC 疾病靶点 GO 功能与 KEGG 富集及通路分析

使用 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp>)进行药物 - 疾病共同靶点蛋白的 GO 功能注释与富集分析。设置条件筛选其中重要数据, 生物过程(BP)、细胞组分(CC)、分子功能(MF)、KEGG 通路等信息。对得到输出的数据整理输入微生信网站(<http://www.bioinformatics.com.cn>), 对整体数据按照 P 值大小升序排序。基因信号通路则借助 KEGG 网站(<https://www.kegg.jp>)构建靶点蛋白质信号通路。

## 3. 结果

### 3.1. 四君子汤中候选化学成分和潜在靶点信息

通过 TCMSP 平台, 检索出四君子汤化学成分, 根据限定条件筛选并剔除重复值及无对应靶点的有效活性成分, 最后收集四君子汤有效成分 114 种化学成分, 其中白术 4 种、茯苓 6 种、人参 17 种、甘草 88 种, 其中人参与甘草共同 1 个成分(山奈酚(kaempferol)), 将这 114 种药物成分的目标靶点导入 Uniprot 获取相对应的基因名称, 得到 2037 个有效目标靶点, 剔除重复, 最后整理共有 231 个潜在的靶点蛋白。四君子汤各药物化学活性可见表 1。

**Table 1.** Active ingredients of Sijunzi Decoction

**表 1.** 四君子汤的活性成分

中药名称	活性成分 ID	化合物名称	基因名称	口服生物利用度 (OB)%	类药性 (DL)
白术	MOL000022	14-acetyl-12-senecioid-2E, 8Z, 10E-atractylentriol	PTGS2	63.37	0.3
白术	MOL000033	(3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R)-10, 13-dimethyl-17-[(2R, 5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	PAQR6	36.23	0.78
白术	MOL000049	3 $\beta$ -乙酰氧基苍术酮(3 $\beta$ -acetoxyatractylone)	CHRM3	54.07	0.22
白术	MOL000072	8 $\beta$ -乙氧基白术内酯 III (8 $\beta$ -ethoxy atractylenolide III)	PTGS2	35.95	0.21
茯苓	MOL000273	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-methylhept-5-enoic acid	NR3C2	30.93	0.81
茯苓	MOL000275	栓菌酸 (trametenolic acid)	NR3C2	38.71	0.8
茯苓	MOL000279	酒酵母甾醇 (Cerevisterol)	NR3C2	37.96	0.77
茯苓	MOL000282	ergosta-7,22E-dien-3 $\beta$ -ol	PAQR6	43.51	0.72

## Continued

茯苓	MOL000283	Ergosterol peroxide	PAQR6	40.36	0.81
茯苓	MOL000296	常青藤苷元 (hederagenin)	PAQR6	36.91	0.75
甘草	MOL001484	Inermine	PTGS1	75.18	0.54
甘草	MOL001792	戊酸双氟可龙 (DFV)	PTGS1	32.76	0.18
甘草	MOL000211	桦木酸甲酯 (Mairin)	PAQR6	55.38	0.78
甘草	MOL002311	甘草酚 (Glycyrol)	NOS2	90.78	0.67
甘草	MOL000239	梔子醇 (Jaranol)	NOS2	50.83	0.29
甘草	MOL002565	美迪紫檀素 (Medicarpin)	NOS2	49.22	0.34
甘草	MOL000354	异鼠李素 (isorhamnetin)	NOS2	49.6	0.31
甘草	MOL000359	谷甾醇 (sitosterol)	PAQR6	36.91	0.75
甘草	MOL003656	黄羽扇豆魏特酮 (Lupiwighteone)	NOS2	51.64	0.37
甘草	MOL003896	7-Methoxy-2-methyl isoflavone	NOS2	42.56	0.2
甘草	MOL000392	刺芒柄花素 (formononetin)	NOS2	69.67	0.21
甘草	MOL000417	毛异黄酮 (Calycosin)	NOS2	47.75	0.24
人参、甘草	MOL000422	山奈酚 (kaempferol)	NOS2	41.88	0.24
甘草	MOL004328	柚皮素 (naringenin)	PTGS1	59.29	0.21
甘草	MOL004805	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano[2,3-f]chromen-4-one	NOS2	31.79	0.72
甘草	MOL004806	山豆根酮(euchrenone)	NOS2	30.29	0.57
甘草	MOL004808	粗毛甘草素 B (glyasperin B)	NOS2	65.22	0.44
甘草	MOL004810	粗毛甘草素 F (glyasperin F)	NOS2	75.84	0.54
甘草	MOL004811	粗毛甘草素 C (Glyasperin C)	NOS2	45.56	0.4
甘草	MOL004814	异槲皮酚 (Isotrifoliol)	NOS2	31.94	0.42
甘草	MOL004815	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl)prop-2-en-1-one	NOS2	39.62	0.35
甘草	MOL004820	kanzonols W	NOS2	50.48	0.52
甘草	MOL004824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	NOS2	60.25	0.63
甘草	MOL004827	半甘草异黄酮 B (Semilicoisoflavone B)	NOS2	48.78	0.55
甘草	MOL004828	鳞叶甘草素 A (Glepidotin A)	NOS2	44.72	0.35
甘草	MOL004829	鳞叶甘草素 B (Glepidotin B)	PTGS1	64.46	0.34
甘草	MOL004833	菜豆异黄酮(Phaseolinisoflavan)	NOS2	32.01	0.45
甘草	MOL004835	刺甘草查耳酮(Glypallichalcone)	NOS2	61.6	0.19
甘草	MOL004838	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	NOS2	58.44	0.38
甘草	MOL004841	甘草查尔酮 B (Licochalcone B)	NOS2	76.76	0.19
甘草	MOL004848	甘草查尔酮 G (licochalcone G)	NOS2	49.25	0.32
甘草	MOL004849	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	NOS2	59.62	0.43
甘草	MOL004855	甘草利酮(Licoricone)	NOS2	63.58	0.47
甘草	MOL004856	甘草宁 A (Gancaonin A)	NOS2	51.08	0.4
甘草	MOL004857	甘草宁 B (Gancaonin B)	NOS2	48.79	0.45
甘草	MOL004863	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	NOS2	66.37	0.41
甘草	MOL004864	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	NOS2	30.49	0.41
甘草	MOL004866	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl)chromone	F2R	44.15	0.41
甘草	MOL004879	甘草宁 (Glycyrin)	NOS2	52.61	0.47
甘草	MOL004882	甘草香豆酮 (Licocoumarone)	NCOA7	33.21	0.36

## Continued

甘草	MOL004883	甘草异黄酮 (Licoisoflavone)	NOS2	41.61	0.42
甘草	MOL004884	甘草异黄酮 B (Licoisoflavone B)	NOS2	38.93	0.55
甘草	MOL004885	甘草异黄酮 (licoisoflavanone)	NOS2	52.47	0.54
甘草	MOL004891	shinpterocarpin	NOS2	80.3	0.73
甘草	MOL004898	(E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one	NCOA7	46.27	0.31
甘草	MOL004903	甘草苷 (liquiritin)	F10	65.69	0.74
甘草	MOL004904	甘草吡喃香豆素 (licopyranocoumarin)	NOS2	80.36	0.65
甘草	MOL004907	光甘草轮 (Glyzaglabrin)	NOS2	61.07	0.35
甘草	MOL004908	光甘草定 (Glabridin)	NOS2	53.25	0.47
甘草	MOL004910	光果甘草宁 (Glabranin)	NOS2	52.9	0.31
甘草	MOL004911	光果甘草酮 (Glabrene)	NOS2	46.27	0.44
甘草	MOL004912	光甘草酮 (Glabrone)	NOS2	52.51	0.5
甘草	MOL004913	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	NCOA7	48.14	0.43
甘草	MOL004914	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	NCOA7	62.9	0.53
甘草	MOL004915	黄甘草异黄酮 A (Eurycarpin A)	NOS2	43.28	0.37
甘草	MOL004924	(-)-Medicocarpin	PTGS2	40.99	0.95
甘草	MOL004935	Sigmoidin-B	NCOA7	34.88	0.41
甘草	MOL004941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	PTGS1	71.12	0.18
甘草	MOL004945	(2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chroman-4-one	NOS2	36.57	0.32
甘草	MOL004948	异甘草酚 (Isoglycyrol)	NOS2	44.7	0.84
甘草	MOL004949	异甘草黄酮醇 (Isolicoflavonol)	NOS2	45.17	0.42
甘草	MOL004957	母乳寡糖 (HMO)	NOS2	38.37	0.21
甘草	MOL004959	1-甲氧基菜豆素 (1-Methoxyphaseollidin)	NOS2	69.98	0.64
甘草	MOL004961	Quercetin der	NOS2	46.45	0.33
甘草	MOL004966	3'-Hydroxy-4'-O-Methylglabridin	NOS2	43.71	0.57
甘草	MOL000497	甘草查尔酮 A (licochalcone A)	NOS2	40.79	0.29
甘草	MOL004974	3'-甲氧基光甘草定 (3'-Methoxyglabridin)	NOS2	46.16	0.57
甘草	MOL004978	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyran[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	NOS2	36.21	0.52
甘草	MOL004980	胀果香豆素 A (Inflacoumarin A)	F2R	39.71	0.33
甘草	MOL004985	icos-5-enoic acid	PNRC2	30.7	0.2
甘草	MOL004988	Kanzonol F	NCOA7	32.47	0.89
甘草	MOL004989	6-prenylated eriodictyol	NOS2	39.22	0.41
甘草	MOL004990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin	NOS2	83.71	0.27
甘草	MOL004991	7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮 (7-Acetoxy-2-methylisoflavone)	NOS2	38.92	0.26
甘草	MOL004993	8-prenylated eriodictyol	NCOA7	53.79	0.4
甘草	MOL004996	反 9-甘碳烯酸 (gadelaidic acid)	PNRC2	30.7	0.2

## Continued

甘草	MOL000500	牛角花酮 (Vestitol)	NOS2	74.66	0.21
甘草	MOL005000	甘草宁 G (Gancaonin G)	NOS2	60.44	0.39
甘草	MOL005001	甘草宁 H (Gancaonin H)	NCOA7	50.1	0.78
甘草	MOL005003	Licoagrocarpin	NOS2	58.81	0.58
甘草	MOL005007	Glyasperins M	NOS2	72.67	0.59
甘草	MOL005008	甘草黄酮醇 A (Glycyrrhiza flavonol A)	NOS2	41.28	0.6
甘草	MOL005012	甘草异黄酮 (Licoagroisoflavone)	NOS2	57.28	0.49
甘草	MOL005016	芳香膜菊素 (Odoratin)	NOS2	49.95	0.3
甘草	MOL005017	Phaseol	F2R	78.77	0.58
甘草	MOL005018	Xambioona	NOS2	54.85	0.87
甘草	MOL005020	dehydroglyasperins C	NOS2	53.82	0.37
甘草	MOL000098	槲皮素 (quercetin)	PTGS1	46.43	0.28
人参	MOL002879	邻苯二甲酸二异辛酯 (Diop)	SCN5A	43.59	0.39
人参	MOL000449	豆甾醇 (Stigmasterol)	PAQR6	43.83	0.76
人参	MOL000358	$\beta$ -谷甾醇 (beta-sitosterol)	PAQR6	36.91	0.75
人参	MOL003648	山槐素 (Inermin)	PTGS1	65.83	0.54
人参	MOL005308	阿朴天仙子碱 (Aposiopalamine)	CHRM3	41.88	0.22
人参	MOL005317	去氧哈林通碱 (Deoxyharringtonine)	AR	39.27	0.81
人参	MOL005318	石竹胺 (Dianthramine)	PTGS1	40.45	0.2
人参	MOL005320	花生四烯酸 (arachidonate)	PTGS1	45.57	0.2
人参	MOL005321	灌木远志酮 A (Frutinone A)	PTGS1	65.9	0.34
人参	MOL005344	人参皂甙 Rh2 (ginsenoside rh2)	BAX	36.32	0.56
人参	MOL005348	Ginsenoside-Rh4_qt	NR3C2	31.11	0.78
人参	MOL005356	吉九里香碱 (Girinimbina)	PTGS1	61.22	0.31
人参	MOL005376	人参二醇 (Panaxadiol)	NR3C1	33.09	0.79
人参	MOL005384	苏齐内酯 (suchilactone)	KCNC2	57.52	0.56
人参	MOL005399	alexandrin_qt	PAQR6	36.91	0.75
人参	MOL000787	延胡索碱 (Fumarine)	PTGS1	59.26	0.83

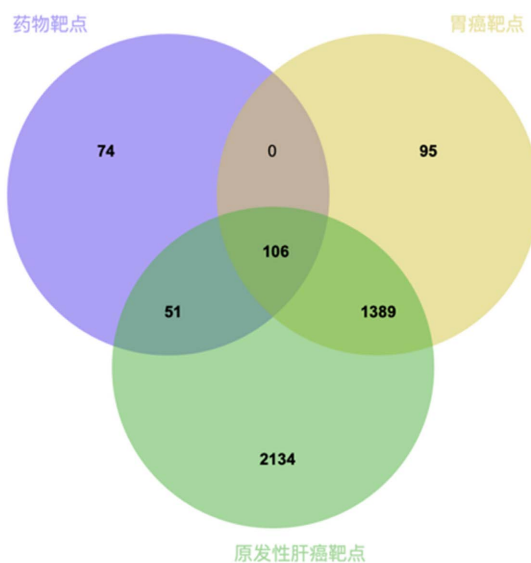
### 3.2. PLC、GC 的相关靶点信息

分别通过 TTD 数据库、GeneCards 数据库、DrugBank 数据库和 OMIM 数据库四个数据库获取 PLC、GC 相关靶点信息，取四个数据库数据信息的并集，最后整理得到 PLC 有 3680 个和 GC 有 1590 个相关靶点。

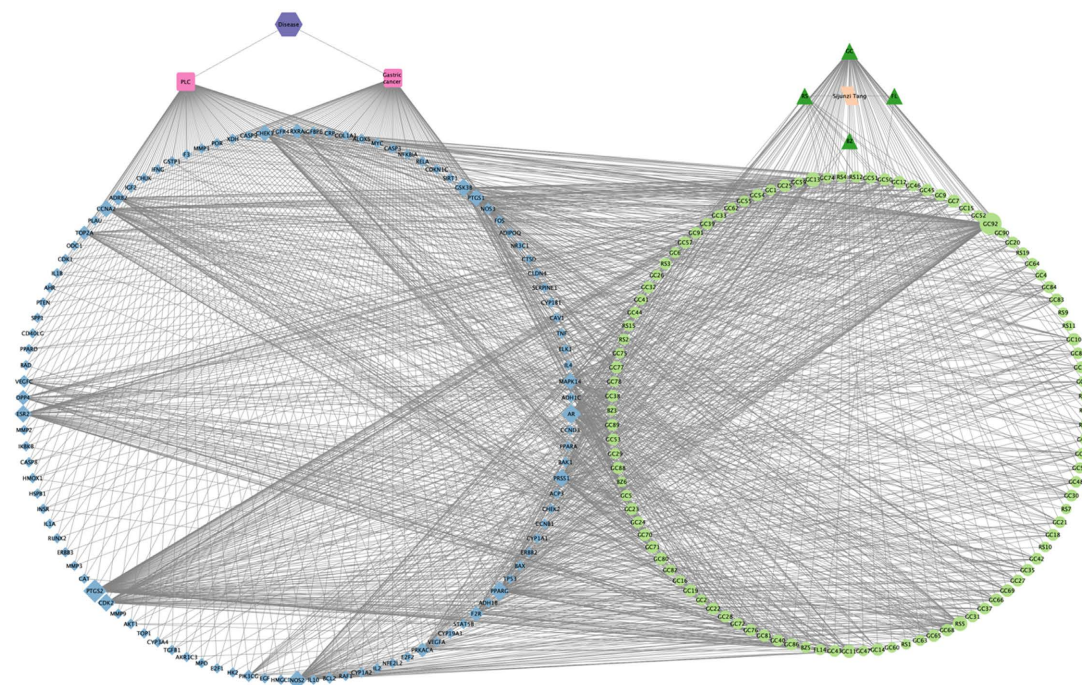
### 3.3. “药物 - 活性成分 - 靶点 - 疾病” 相互作用网络分析

将收集到的药物活性靶点蛋白与 PLC、GC 疾病靶点制作 Venn 图(图 1)。可知四君子汤与 PLC 交集 157 个靶点与 GC 交集 106 个靶点，PLC 与 GC 交集 1495 个相关靶点，三者交集 106 个共同靶点。导出数据应用至 Cytoscape 3.9.1 软件构建“药物 - 活性成分 - 靶点 - 疾病”相互作用网络图(图 2)，最终得到

217 个节点和 1451 条边，根据节点度(degree)值大小排序 1，值越高显示靶点核心成分起到关键作用概率越大，得到 degree 值前六位靶点为(最后两位为并列)：前列腺素内过氧化物酶 2 (PTGS2)、雄激素受体 (AR)、过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARG)、一氧化氮合酶 2 (NOS2)、糖原合成酶激酶-3 $\beta$  (GSK3B)、细胞周期蛋白依赖性激酶 2 (CDK2)可分别对应多种有效成分。



**Figure 1.** Venn diagram of drug active target proteins and PLC, GC disease targets  
**图 1.** 药物活性靶点蛋白与 PLC、GC 疾病靶点 Venn 图



图注：三角形代表药物，圆形代表活性成分，正方形代表疾病，菱形代表药物-疾病靶点。Degree 值越高，则面积与字符越大。

**Figure 2.** Network diagram of drug-active ingredient-target-disease interaction  
**图 2.** 药物 - 活性成分 - 靶点 - 疾病相互作用网络图



### 3.4. PPI 网络构建与核心靶点分析

将“药物-疾病”靶点添加至 STRING 11.5 数据库中可得蛋白质作用图(图 3), 该网络中共有 106 个节点, 1615 条边, 介数 83.03, 平均节点度值 30.47, 路径是节点(即蛋白)与节点之间的关系网络, 图中注释路径越复杂则联系越紧密, degree 值越大蛋白点越大颜色越深(绿渐变红为深)。本文数据化 PPI 关系图(图 4)利用前期得到数据导入 Cytoscape 3.9.1 软件绘制。如图显示, 本文受限截取 degree 值前八名, 分别为: 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT1)、肿瘤抑制基因 P53 (TP53)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、肿瘤坏死因子(TNF)、核蛋白类癌基因(MYC)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、白细胞介素-1 $\beta$  (IL1B), 其中检索前数据有效活性成分主要分析有: 山奈酚(kaempferol)、槲皮素(quercetin)、柚皮素(naringenin)、人参皂苷 Rh2 (ginsenoside rh2)。

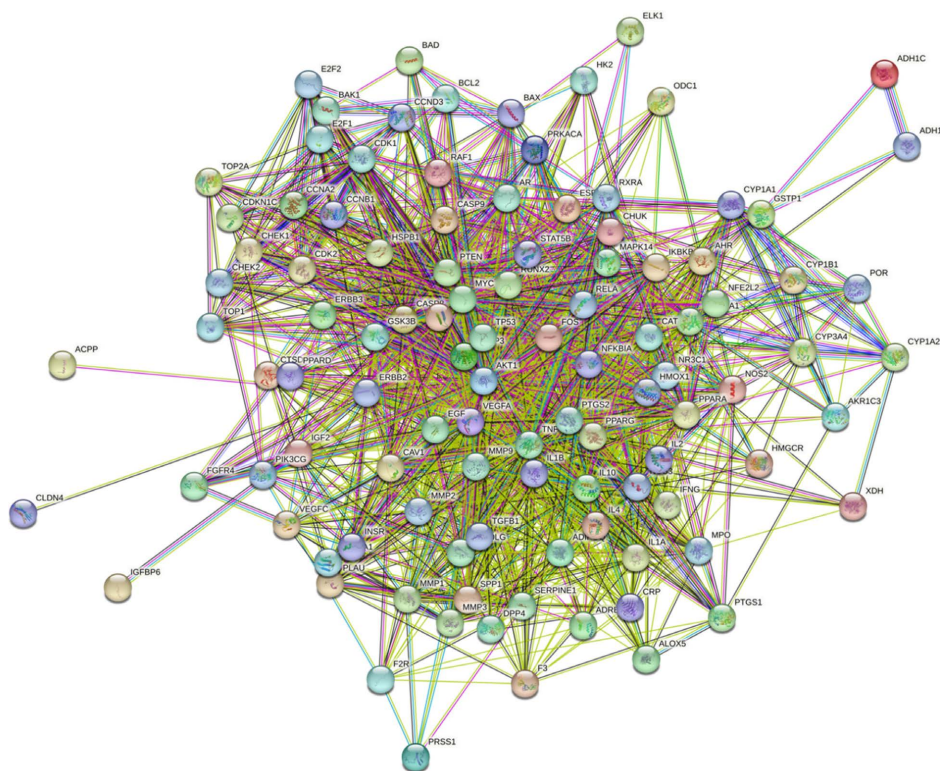


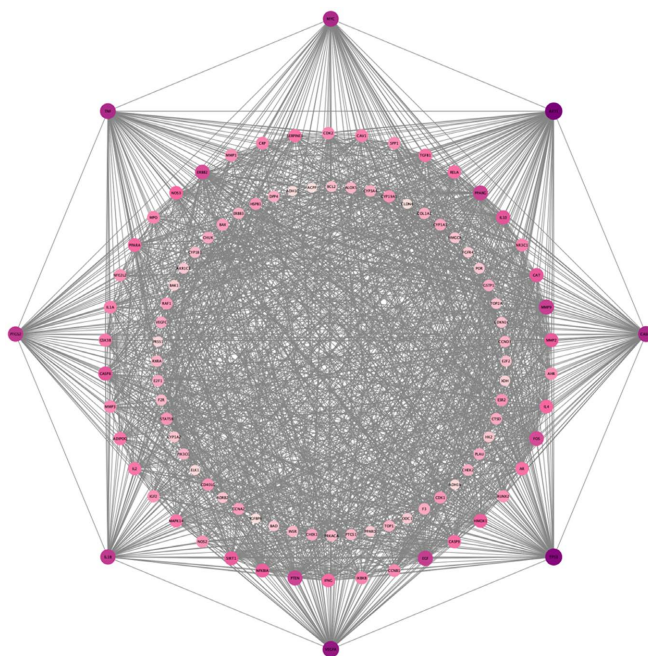
Figure 3. Protein interaction diagram  
图 3. 蛋白质作用图

### 3.5. 四君子汤治疗靶点的 GO 功能与 KEGG 富集分析

从 DAVID 数据库中截取 GO 功能富集 BP 条目 671 条, CC 条目 54 条, MF 条目 120 条, 三者 P 值由小到大排序取前十名, 绘制 GO 功能可视化分析图(图 5)以及制作 BP、CC、MF 数据的前三名表格(表 2), 分析可知四君子汤对疾病在基因表达的正向调控、转录 DNA 模板化的正向调节以及药物反应上有着积极作用, 对于细胞外质和胞内线粒体有一定关联, 在大分子调控方面对结合酶、蛋白结合及蛋白质二聚活性有关联性。

KEGG 通路富集分析获取, 根据 P 值升序排序选取前 20 位进行绘制可视图(图 6)。结果分析四君子汤中中药对机体作用是整体的, 通过多通路、多途径、多靶点发挥作用, 图中可视数据发现, 可预测性最大是癌症信号通路, 其次分别排列为前列腺癌、乙型肝炎、丙型肝炎、动脉粥样硬化、小细胞肺癌、

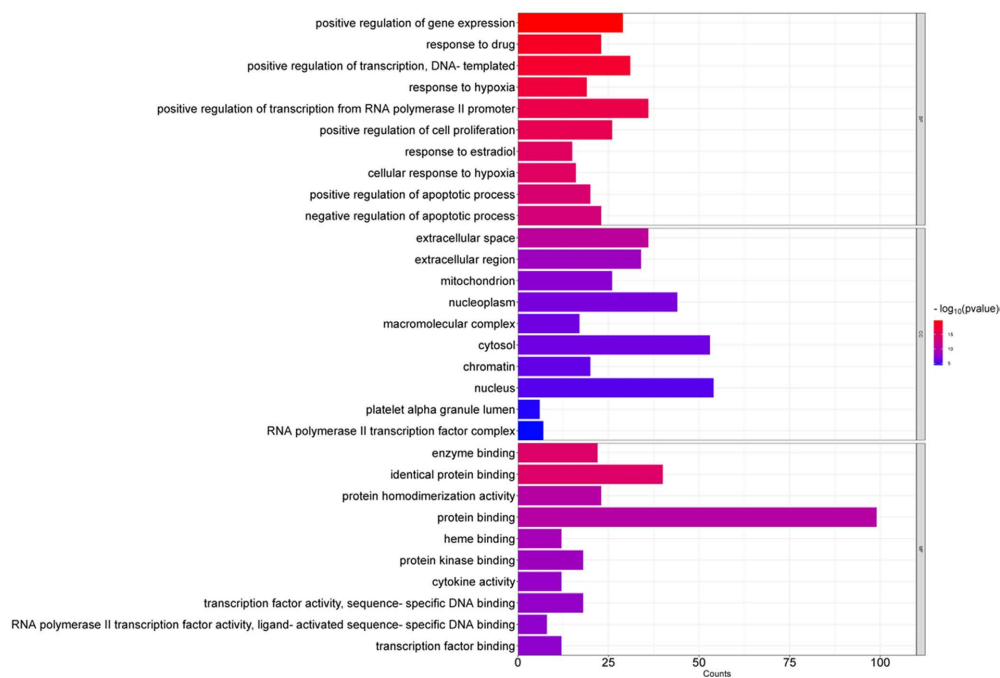
PI3K-AKT 信号通路等共 20 条较为密集的通路，通过图中可分析出本文研究的药物中治疗 PLC、GC 是多种通路交集复杂的生物体内代谢的过程。具体 KREGG 作用通路结果图(图 7)。



图注：节点越大、颜色越深，代表 Degree 值越大。

**Figure 4.** PPI network and core target proteins

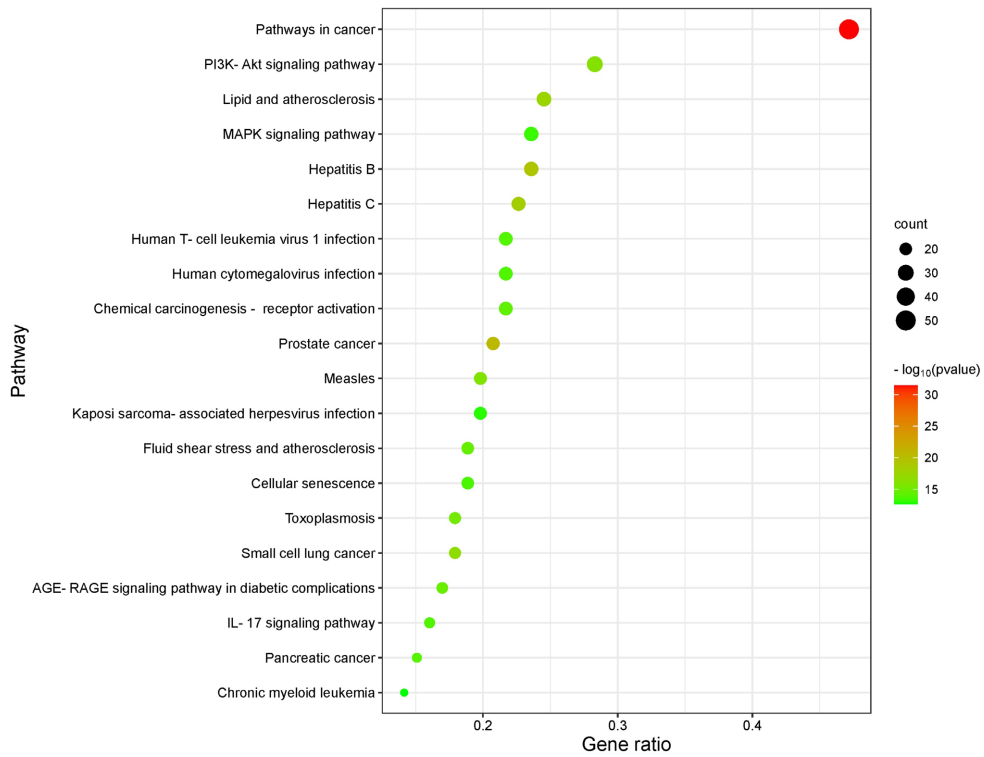
**图 4.** PPI 网络 and 核心靶蛋白



图注：柱状图中每条柱的长短表示基因数量，颜色深浅代表富集程度，颜色越深则富集程度越高。

**Figure 5.** GO enrichment analysis

**图 5.** GO 富集分析



图注：图中圆圈面积大小表示基因数量，颜色深浅代表富集程度(P 值越小颜色越深，富集程度越高)

Figure 6. KEGG signal path analysis

图 6. KEGG 信号通路分析

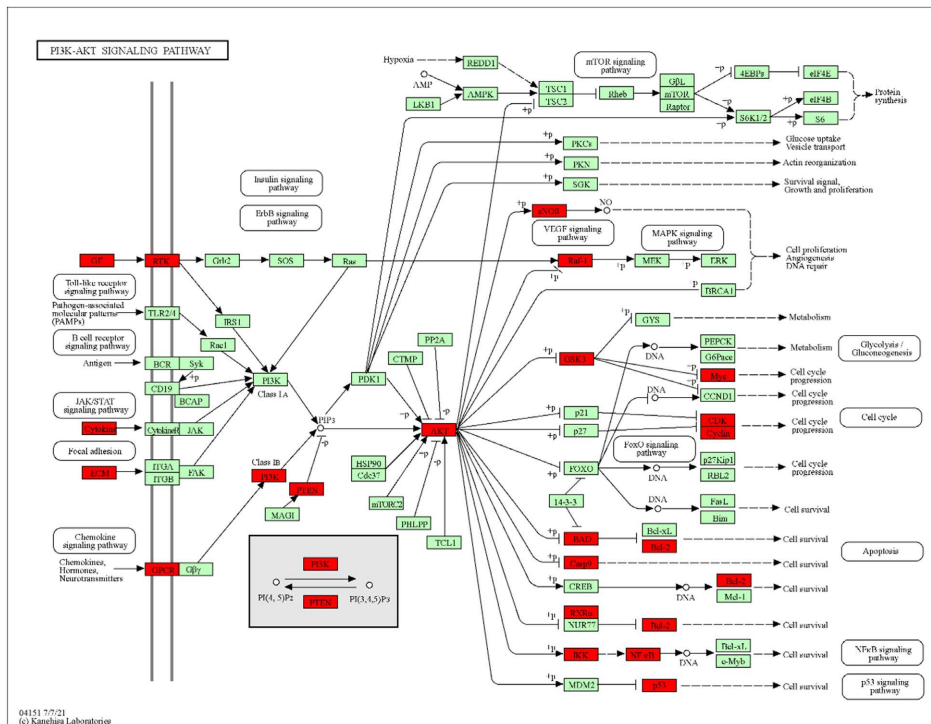


Figure 7. PI3K-AKT signal path

图 7. PI3K-AKT 信号通路

**Table 2.** BP, CC, MF data  
**表 2.** BP、CC、MF 数据

条目	基因	基因数	ID	分类
Positive regulation of gene expression (基因表达的正向调控)	CRP, GSK3B, PTEN, TNF, RELA, ERBB3, MYC, ERBB2, E2F1, AKT1, TGFB1, EGF, NOS3, CAV1, MAPK14, F3, RUNX2, VEGFA, IL4, IL1A, AR, IFNG, IL1B, CDK1, PPARG, FGFR4, TP53, PPAR, NFE2L2	29	GO:0010628	BP
response to drug (药物反应)	IL10, TGFB1, CHUK, BAD, PTEN, VEGFC, FOS, PTGS2, RELA, COL1A1, POR, CCNB1, MYC, CASP3, CAT, CYP1A1, BCL2, CDK1, HMOX1, PPARG, BAK1, TOP1, TP53	23	GO:0042493	BP
Positive regulation of transcription, DNA-templated (转录 DNA 模板化的正向调节)	CDKN1C, AHR, ELK1, TNF, RELA, IKBKB, RXRA, CHEK2, MYC, E2F1, SPP1, AKT1, IL10, TGFB1, CHUK, EGF, INSR, F2R, FOS, RUNX2, ESR2, IL4, CCNA2, COL1A1, AR, IL1B, CDK2, PPARG, PPARA, TP53, PPAR	31	GO:0045893	BP
Extracellular space (细胞外隙)	CRP, PRSS1, GSTP1, SERPINE1, HSPB1, MPO, TNF, ERBB3, PLAU, ALOX5, CHEK1, SPP1, HMOX1, IGFBP6, ACP3, XDH, CTSD, IL10, TGFB1, EGF, MMP2, ADIPOQ, MMP3, IGF2, VEGFC, MMP9, F3, IL2, VEGFA, IL4, COL1A1, IL1A, CD40LG, IFNG, IL1B, CAT	36	GO:0005576	CC
Extracellular region (细胞外域)	CRP, PRSS1, GSTP1, SERPINE1, PTEN, MPO, TNF, DPP4, PLAU, ALOX5, SPP1, IGFBP6, CTSD, IL10, TGFB1, MMP1, EGF, MMP2, ADIPOQ, MMP3, F2R, IGF2, VEGFC, MAPK14, MMP9, IL2, VEGFA, IL4, COL1A1, IL1A, IFNG, IL1B, CAT, FGFR4	34	GO:0005739	CC
Mitochondrion (线粒体)	GSK3B, GSTP1, PTEN, NR3C1, ELK1, HK2, CASP9, CASP8, RXRA, MYC, CYP1B1, AKT1, BAK1, PRKACA, BAD, MMP2, MAPK14, SIRT1, ESR2, POR, CAT, BCL2, CDK1, BAX, RAF1, TP53	26	GO:0005654	CC
Enzyme binding (结合酶)	TOP2A, TGFB1, CAV1, PTEN, CYP3A4, PTGS2, MAPK14, SIRT1, RELA, ESR2, NFKBIA, AR, POR, RXRA, CYP1A2, CAT, CYP1A1, AKT1, HMOX1, PPARG, RAF1, TP53	22	GO:0019899	MF
Identical protein binding (相同蛋白结合)	CRP, PTEN, HSPB1, HMGCR, ADRB2, NR3C1, TNF, RELA, PIK3CG, CASP9, DPP4, IKBKB, CASP8, RXRA, ERBB3, CHEK2, ERBB2, AKT1, HMOX1, BAK1, IGFBP6, ACP3, STAT5B, TGFB1, CAV1, INSR, ADIPOQ, FOS, MMP9, SIRT1, VEGFA, NFKBIA, COL1A1, CLDN4, CAT, BCL2, BAX, PPARG, RAF1, TP53	40	GO:0042802	MF
Protein homodimerization activity (蛋白质均二聚活性)	TOP2A, STAT5B, NOS2, CHUK, ODC1, ADIPOQ, HSPB1, AHR, ADRB2, PTGS2, RELA, VEGFA, DPP4, IKBKB, CHEK2, CAT, BCL2, BAX, AKT1, HMOX1, BAK1, ACP3, XDH	23	GO:0042803	MF

## 4. 讨论

在国家大力发展中医药事业中, 中医优势逐渐显现突出。临床上使用中医药干预治疗 PLC、GC 都用显著临床疗效。如郑蔚婵[9]等用中医治疗下, 可减轻患者疼痛、药物毒副作用以及经济负担, 延长患者生存及生活质量。本文研究是基于网络药理学的方法, 借助官方 TTD、GeneCards、TCMSP 及 OMIM 数据库在 Cytoscape 3.9.1 软件对四君子汤异病同治原发性肝癌和胃癌的作用机制进行探讨, 最后在蛋白质相互作用关系网络图中分析得出, 最关键价值靶点取前 8 位为 AKT1、TP53、VEGFA、CASP3、TNF、MYC、PTGS2、IL1B。在相关研究中发现, MAPK 信号通路是肝癌细胞在自身免疫中, 产生免疫反应起到关键用[10], 因此在临床中是药物作用的观察研究方向, 在本研究中 TNF 是研究方药中重要靶点, 又是受此信号通路的作用, 应该值得关注。同研究下[11][12], PI3K-AKT 对相关胃癌患者具有一定的判别作用, 而 TP53 对总生存期及复发可能有预测重要性, 关乎患者是否为高危的因素, 对预测临床预后具有指导意义。相关研究发现[13], VEGFA 的基因和蛋白表达是影响肝癌细胞系中某些物质, 从而受到调控, 其调控基因为 miRNA-874、miRNA-637 影响, 而 VEGFA 可启动 RASRAF-MEK-ERK-MAPK 通路因子, 也有待进一步观察, 也有研究显示[14][15], 抑制 CASP3 可对肝癌细胞产生损伤和转移的作用。而研究中四君子汤对此信号通路是关键的, 因此对于研究“异病同治”是具有方向指导, 同时也值得在临床中运用。有学者研究认为[16], 转录因子 MYC 抑制肿瘤向恶性表达, 对肿瘤细胞代谢能够影响并控制, 进而达到对抑制疾病进一步扩散。相关研究支持下[17], 对体内息肉风险控制 PTGS2 可利用一种启动因子降低癌变风险。在观察研究中[18], IL1B 对癌症患者预后有明显的负向作用, 因此在治疗过程中抑制其浓度, 对疗效有参考意义, 对未来新型治疗方向有一定的指向性。

经过 KEGG 通路分析, 分析表明四君子汤的靶点成分与 PLC、GC 的相关通路关系密切, 其中癌症信号、前列腺癌、乙型肝炎、丙型肝炎、动脉粥样硬化、小细胞肺癌、PI3K-AKT 信号通路都是相关作用的表达。本文研究中利用 PI3K-AKT 信号通路, 此通路互相联系系包含 GF、PTK、ECM、PTEN、Raf-1、GSK3、Casp9、Bcl-2、NF- $\kappa$ B、P53、Myc 等多达 22 种通路信号相关。其中 PTEN 是双磷酸酶其中一种, 有蛋白质作用和脂质磷酸酶活性, 对癌症细胞代谢和生长具有调节作用[19]。Davis RK 一项具有展望的研究对破坏蛋白作用的小分子, Raf-1 相关通路提供了很大希望, 对临床在抗癌治疗中有了理想选择[20]。大量相关的研究表明, GSK3 通过降解蛋白质抑制或激活细胞生长, GSK3 可以影响其信号通路 AMPK、mTOR 和 Wnt 的致瘤性产物, GSK3 对部分癌症有发挥代谢作用, 因此 GSK3 抑制癌有帮助作用[21][22]。Bcl-2 是化疗药物研究发展的重要靶点方向, Ebrahim [23]团队对 Bcl-2 基因沉默 DNA 的方法来阻断其表达, 达到对癌细胞的作用。有研究发现, 免疫反应中 NF- $\kappa$ B 基因产物可对肿瘤表达和发展进行作用, 因此该基因可能对癌症预后与肿瘤标记物有重要参考[24]。基于 P53 基因容易发生突变, 改善其突变的机制, 靶向突变型可重新激活为野生型, 从而作为新的治疗策略[25]。研究 Myc 基因转录、翻译抑制中, 阻断其表达出致死基因, 此基因与其结合伴侣基因或通过替代方式都有许多深入研究, 因此 Myc 基因在癌症细胞中有着核心地位[26][27]。本文研究四君子汤中同治 PLC、GC 等进展或转移的治疗上也是密切相关, 相关研究的文献相对较多, 对四君子汤在临床实践中用很好的参考作用。

本文应用网络药理学研究的相关方法, 基于中医脾胃(脾)同治理论对四君子汤异病同治 PLC、GC 展开整体研究, 在网络药理基础数据库中探讨此方组的药物作用机制, 为往后四君子汤在临床中是如何通过哪些关键基因以及药物的活性成分提供了科学依据。而本文主要研究发现是四君子汤是通过多中癌症通路及本文述的关键靶点的表达, 其中调控癌症信号通路较本文突出等多途径、多通路来达到治疗 PLC、GC 的效果。同时, 此次研究也反应了中医药的方组是在多方面作用、多靶点作用下治疗疾病的特点, 本文研究为此多提供了另一种新思路。因为本文研究是对此经方作用机制进行预测, 在中医理论支持下,

严谨对待研究结果, 暂未有实验或临床数据支持, 仍需众多数据验证如动物研究, 细胞研究等, 另外也是对药物观察指标参数设置限定, 本文研究中《伤寒论》中四君子汤治疗 PLC、GC 的作用机制, 需要未来研究中更多的投入来更加明确经方在治疗疾病的重要性。

## 参考文献

- [1] Ringelhan, M., Pfister, D., O'Connor, T., Pikarsky, E. and Heikenwalder, M. (2018) The Immunology of Hepatocellular Carcinoma. *Nature Immunology*, **19**, 222-232. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0044-z>
- [2] Li, X., Ramadori, P., Pfister, D., Seehawer, M., Zender, L. and Heikenwalder, M. (2021) The Immunological and Metabolic Landscape in Primary and Metastatic Liver Cancer. *Nature Reviews Cancer*, **21**, 541-557. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00383-9>
- [3] Kanwal, F., Kramer, J.R., Mapakshi, S., Natarajan, Y., Chayanupatkul, M., Richardson, P.A., Li, L., Desiderio, R., Thrift, A.P., Asch, S.M., Chu, J. and El-Serag, H.B. (2018) Risk of Hepatocellular Cancer in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*, **155**, 1828-1837. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.08.024>
- [4] Venerito, M., Link, A., Rokkas, T. and Malfertheiner, P. (2016) Gastric Cancer—Clinical and Epidemiological Aspects. *Helicobacter*, **21**, 39-44. <https://doi.org/10.1111/hel.12339>
- [5] 潘才豪. 原发性肝癌的中医治疗[C]//李俊德. 2013 年中医、中西医结合防治肝癌、肝病高峰论坛论文集: 2013 年卷, 2013: 121-131.
- [6] 丁园园. 胃癌中医证型、证候及相关性研究[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2011.
- [7] 张艳梅. 四君子汤治疗中医内科疾病脾胃气虚证的疗效[J]. 中医临床研究, 2022, 14(9): 100-102.
- [8] 李紫瑞, 王坚, 王瑞平. 中医疏肝健脾法治疗肝癌的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(21): 2383-2388.
- [9] 郑蔚婵, 李辉, 龚雯婧. 复方皂角刺膏外敷治疗原发性肝癌重度癌性疼痛 28 例临床观察[J]. 湖南中医杂志, 2022, 38(10): 8-11.
- [10] Kong, D., Chen, H., Chen, W., Liu, S., Wang, H., Wu, T., Lu, H., Kong, Q., Huang, X. and Lu, Z. (2013) Gene Expression Profiling Analysis of Hepatocellular Carcinoma. *European Journal of Medical Research*, **18**, Article No. 44. <https://doi.org/10.1186/2047-783X-18-44>
- [11] Ghatak, S., Lalnunhlimi, S., Lalrohlu, F., Pautu, J.L., Zohmingthanga, J., Kunnumakkara, A.B. and Kumar, N.S. (2018) Novel AKT1 Mutations Associated with Cell-Cycle Abnormalities in Gastric Carcinoma. *Personalized Medicine*, **15**, 79-86. <https://doi.org/10.2217/pme-2017-0053>
- [12] Deng, W., Hao, Q., Vadgama, J. and Wu, Y. (2021) Wild-Type TP53 Predicts Poor Prognosis in Patients with Gastric Cancer. *Journal of Cancer Science and Clinical Therapeutics*, **5**, 134-153. <https://doi.org/10.26502/jcsct.50790107>
- [13] Castanhole-Nunes, M.M.U., Tunissiolli, N.M., Oliveira, A.R.C.P., Mattos, M.F., Galbiatti-Dias, A.L.S., Kawasaki-Oyama, R.S., Pavarino, E.C., Da Silva, R.F. and Goloni-Bertollo, E.M. (2022) MiR-612, miR-637, and miR-874 Can Regulate VEGFA Expression in Hepatocellular Carcinoma Cell Lines. *Genes*, **13**, Article No. 282. <https://doi.org/10.3390/genes13020282>
- [14] Zhou, M., Liu, X., Li, Z., Huang, Q., Li, F. and Li, C.-Y. (2018) Caspase-3 Regulates the Migration, Invasion and Metastasis of Colon Cancer Cells. *International Journal of Cancer*, **143**, 921-930. <https://doi.org/10.1002/ijc.31374>
- [15] Ma, X.Y., Zhang, M., Fang, G., Cheng, C.J., Wang, M.K., Han, Y.M., Hou, X.T., Hao, E.W., Hou, Y.Y. and Bai, G. (2021) Ursolic Acid Reduces Hepatocellular Apoptosis and Alleviates Alcohol-Induced Liver Injury via Irreversible Inhibition of CASP3 *In Vivo*. *Acta Pharmacologica Sinica*, **42**, 1101-1110. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-00534-y>
- [16] Wahlström, T. and Henriksson, M.A. (2015) Impact of MYC in Regulation of Tumor Cell Metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Gene Regulatory Mechanisms*, **1849**, 563-569. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.07.004>
- [17] Ulrich, C.M., Whitton, J., Yu, J.-H., et al. (2005) PTGS2 (COX-2) -765G > C Promoter Variant Reduces Risk of Colorectal Adenoma among Nonusers of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **14**, 616-619. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0510>
- [18] Lewis, A.M., Varghese, S., Xu, H. and Alexander, H.R. (2006) Interleukin-1 and Cancer Progression: The Emerging Role of Interleukin-1 Receptor Antagonist as a Novel Therapeutic Agent in Cancer Treatment. *Journal of Translational Medicine*, **4**, Article No. 48. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-4-48>
- [19] Chen, C.-Y., Chen, J., He, L. and Stiles, B.L. (2018) PTEN: Tumor Suppressor and Metabolic Regulator. *Frontiers in Endocrinology*, **9**, Article 338. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00338>
- [20] Davis, R.K. and Chellappan, S. (2008) Disrupting the Rb-Raf-1 Interaction: A Potential Therapeutic Target for Cancer.

- 
- Drug News & Perspectives*, **21**, 331-335. <https://doi.org/10.1358/dnp.2008.21.6.1246832>
- [21] Duda, P., Akula, S.M., Abrams, S.L., Steelman, L.S., Martelli, A.M., Cocco, L., Ratti, S., Candido, S., Libra, M., Montalto, G., Cervello, M., Gizak, A., Rakus, D. and McCubrey, J.A. (2020) Targeting GSK3 and Associated Signaling Pathways Involved in Cancer. *Cells*, **9**, Article No. 1110. <https://doi.org/10.3390/cells9051110>
- [22] Papadopoli, D., Pollak, M. and Topisirovic, I. (2021) The Role of GSK3 in Metabolic Pathway Perturbations in Cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Molecular Cell Research*, **1868**, Article ID: 119059. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2021.119059>
- [23] Ebrahim, A.S., Sabbagh, H., Liddane, A., Raufi, A., Kandouz, M. and Al-Katib, A. (2016) Hematologic Malignancies: Newer Strategies to Counter the BCL-2 Protein. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **142**, 2013-2022. <https://doi.org/10.1007/s00432-016-2144-1>
- [24] Gaptulbarova, K.A., Tsyganov, M.M., Pevzner, A.M., Ibragimova, M.K. and Litviakov, N.V. (2020) NF- $\kappa$ B as a Potential Prognostic Marker and a Candidate for Targeted Therapy of Cancer. *Experimental Oncology*, **42**, 263-269.
- [25] Stein, Y., Rotter, V. and Aloni-Grinstein, R. (2019) Gain-of-Function Mutant p53: All the Roads Lead to Tumorigenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article No. 6197. <https://doi.org/10.3390/ijms20246197>
- [26] Duffy, M.J., O'Grady, S., Tang, M. and Crown, J. (2021) MYC as a Target for Cancer Treatment. *Cancer Treatment Reviews*, **94**, Article ID: 102154. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2021.102154>
- [27] Chen, H., Liu, H. and Qing, G. (2018) Targeting Oncogenic Myc as a Strategy for Cancer Treatment. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **3**, Article No. 5. <https://doi.org/10.1038/s41392-018-0008-7>