

基于 WGCNA 和分子对接分析干姜黄芩黄连人参汤干预胃腺癌的成分及靶点

摘要: **目的** 基于加权共表达网络(WGCNA)分析干姜黄芩黄连人参汤干预胃腺癌(STAD)的成分及靶点。**方法** 从 TCMSP 中寻找与干姜黄芩黄连人参汤中 4 味中药相关的成分和作用靶点, 构建药物分子-靶点网络。在 TCGA 数据库下载 STAD 基因表达数据和临床特征数据, 通过 WGCNA 筛选与 STAD 风险等级相关的模块, 通过 GO 和 KEGG 分析研究模块基因的生物学功能。使用 Cytoscape 筛选关键靶点, 并利用 HPA 数据库验证潜在生物标志物的表达, 通过分子对接技术虚拟筛选与潜在生物标志物作用的化合物。**结果** 成分-靶点网络得到 242 个节点, 676 条边, 其中包括槲皮素、黄芩素、山奈酚等 59 个成分。通过 WGCNA 筛选出的关键模块为蓝色模块, 其中共包括 32 个基因。通过 GO 富集获得 $P \leq 0.05$ 的生物学过程 74 条, 主要涉及 DNA 完整性检验点等; 通过 KEGG 富集获得 $P \leq 0.05$ 的信号通路 97 条, 主要涉及细胞周期和细胞衰老等。Cytoscape 筛选得到的关键靶点为 VEGFA、CDK1、CCND1。HPA 数据库结果显示, 与癌旁组织相比, STAD 组织中关键靶点蛋白表达升高。分子对接结果显示槲皮素、汉黄芩素、黄芩素等化合物与 VEGFA、CDK1、CCND1 关键靶点结合活性较高。**结论** 干姜黄芩黄连人参汤的多种活性成分可通过与胃癌的相关靶标结合, 通过多种生物学途径对胃癌发挥调控作用。

关键词: 胃腺癌; 干姜黄芩黄连人参汤; WGCNA; 网络药理学; 分子对接

Analysis of components and targets of Ganjiang Huangqin Huanglian Renshen Decoction in the treatment of stomach adenocarcinoma based on WGCNA and molecular docking

Abstract: Objective Based on weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) of the components and targets of Ganjiang Huangqin Huanglian Renshen decoction intervention for stomach adenocarcinoma (STAD). **Methods** By identifying all the composition and effect targets of four herbal ingredients in Ganjiang Huangqin Huanglian Renshen decoction from TCMSP platforms and literatures, and the pharmaceutical molecular-target network was constructed. STAD gene expression data and clinical characteristic data from TCGA database were downloaded. WGCNA was used to screen the modules related to the risk level of stad, and GO and KEGG analysis were used to analyze the biological function of module genes. The key targets were screened by Cytoscape, the expression of potential biomarkers were verified by HPA database, and the compounds were docked with the potential biomarkers. **Results** The component-target network included 242 nodes and 676 edges, including 59 components such as quercetin, baicalein, kaempferol, etc. The key module screened by WGCNA was blue module, which included 32 genes. 74 biological processes with $P \leq 0.05$ obtained through GO analysis, mainly related to DNA integrity checkpoint etc; by KEGG analysis, 97 signal pathways with $P \leq 0.05$ were obtained, which

mainly involved cell cycle and cell senescence etc. The key targets screened by Cytoscape were VEGFA, CDK1 and CCND1. The results of HPA database showed that the expression of key target proteins in STAD was higher than that in para-cancerous tissues. Molecular docking results showed that quercetin, wogonin and baicalein had high binding activity with VEGFA, CDK1 and CCND1. **Conclusion** Many active components of Ganjiang Huangqin Huanglian Renshen decoction can regulate gastric cancer through a variety of biological pathways by binding with the related targets of gastric cancer.

Key words: stomach adenocarcinoma; Ganjiang Huangqin Huanglian Renshen decoction; WGCNA; network pharmacology; molecular docking

胃癌(Gastric cancer)是最常见的恶性肿瘤之一, 预后较差, 死亡率高居恶性肿瘤第三位^[1]。胃腺癌(Stomach adenocarcinoma, STAD)是胃癌中最常见的病理分型之一, 约占 95%^[2]。中医药作为改善胃癌前病变、预防复发转移、减轻放化疗副作用、延长晚期胃癌生存期等方面发挥越来越重要的作用^[3]。深入挖掘 STAD 生物标志物和抗 STAD 的天然化合物, 对 STAD 临床诊断、治疗水平的提高及药物的发现具有重要意义。

干姜黄芩黄连人参汤出自《金匱要略》, 主治寒热虚实错杂之呕吐。其中干姜味辛善于升发宣散, 人参味甘善于益气, 属阳; 黄连、黄芩味苦能降逆泄下, 属阴。研究表明, 干姜对消化道有轻度刺激作用, 可促进胃肠蠕动, 改善胃肠动力^[4]; 黄芩有抗菌、解热镇痛作用, 对消化道有一定的保护作用^[5]; 黄连中的活性成分黄连碱、小檗碱等有抗菌、保护胃黏膜的作用^[6]; 人参亦有促进胃肠消化、吸收的作用^[7]。但其抗胃癌的作用靶点和机制未见报道。

癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库利用大规模测序为主的基因组分析技术, 通过广泛的合作, 理解癌症的分子机制。权重基因共表达网络分析(Weighted Gene Co-Expression Network, WGCNA)是一种基于拓扑结构的共表达基因网络筛选模块基因的方法。其通过寻找协同表达的基因模块, 探索基因网络与疾病性状的关系, 从而在基因调控方面揭示 STAD 可能的分子机制^[8]。

本研究利用 WGCNA 方法, 对 TCGA 数据库中获取的胃癌组织基因表达数据进行挖掘分析, 筛选相关差异表达基因, 结合患者临床表型数据挖掘与 STAD 发生发展相关的潜在生物标志物。通过网络药理学筛选出干姜黄芩黄连人参汤的活性成分, 并在此基础上运用分子对接技术初步研究活性成分在胃癌治疗中的作用机制, 为临床胃癌的诊断和治疗提供新的思路和依据。

1 材料和方法

1.1 药物相关活性成分及药物靶点的筛选

采用中药系统药理学数据库和分析平台 TCMSP, 在“信息设定”模块, 分别以“干姜”“黄芩”“黄连”“人参”为关键词检索获得干姜黄芩黄连人参汤中所含的已知化学成分, 设置口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.18 筛选活性成分, 利用 TCMSP 数据库中的靶点预测功能收集已知化学成分的靶标。将所筛选的成分靶点导入 Uniprot 数据库, 限定物种为“human”, 将检索得到的所有蛋白靶标校正为 UniprotID, 并得到靶标蛋白所对应的基因名。

1.2 药物作用靶点预测及及药材-化合物-靶标网络的构建

以“gastric carcinoma”为关键词, 检索 GenCards、OMIM、PharmGkb、TTD、DrugBank 数据库, 选择物种为“Homo sapiens”, 将五种数据库的基因去重后得到与胃癌相关的基因。将胃癌相关的基因和靶标蛋白所对应的基因取交集, 利用 R 语言绘制韦恩图, 将药物预测的靶点与疾病的靶点进行映射, 获得干姜黄芩黄连人参汤治疗胃癌的潜在作用靶点。并用 Cytoscape 3.7.1 软件构建药材-化合物-靶标网络, 分析化合物和靶点网络。

1.3 TCGA 数据下载和预处理

在 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov>)中下载基因表达数据和相应的 JORN 格式的临床特征数据。参数设置: 组织类型为胃、亚型为 TCGA-STAD(胃腺癌)、数据类型为转录数据、表达类型为基因表达量、Workflow 类型为 HTSeq-Counts。用 R 语言处理数据, 删除无临床特征信息或临床特征信息不全的样本, 以 $P < 0.05$ 、 $|\log FC| > 1$ 为标准筛选差异表达基因, 建立差异表达基因矩阵。

1.4 WGCNA 分析

通过 R 包“WGCNA”对 STAD 差异表达基因进行分析, 构建权重基因共表达模块, 分析各模块与临床信息的相关性。先构建样本聚类树, 剔除离群样本构建基因间相关矩阵, 选择合适的软阈值 β , 运用动态剪切树法确定基因模块, 设置每一个模块基因不少于 30 个, 并根据模块特征向量 ME 将聚类树上相似的模块合并, 绘制层次聚类树状图, 并将模块与表型数据结合, 计算各模块的 ME 与临床信息的皮尔森相关系数及其 P 值, 通过皮尔森相关系数判断不同模块与各个临床信息间的关系, 相关系数较高的多个模块中包含的基因靶点与药物作用靶点进行比对, 选取共同靶点最多的模块作为干预 STAD 的目标模块, 其共同靶点为干姜黄芩黄连人参汤干预 STAD 的作用靶点。

1.5 GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析

采用 R 语言软件, 应用 org.Hs.eg.db 将 symbol 转变为基因 ID, 利用 clusterProfiler 程序包, 对调控网络的靶基因进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析, 设定 $P < 0.05$, 筛选出干姜黄芩黄连人参汤具有显著性差异的 GO 功能和 KEGG 通路信息。将符合 $P < 0.05$, 从小到大排序前 20 个 GO 及 KEGG 信号通路用 R 软件画出 GO 富集分析和 KEGG 通路分析的柱状图及气泡图。

1.6 药物-疾病靶点相互作用网络构建

将共有靶标基因上传至 STRING 平台, 选择“multiple proteins”模式, 蛋白种属设为“Homo sapiens”, 建立药物靶蛋白-疾病靶蛋白(PPI)相互作用网络, 删除孤立节点, 其他参数默认, 得到 PPI 相互作用关系网络, 获得蛋白互作关系, 保存为 TSV 格式文件。将其导入 Cytoscape-3.7.1 中, 并运用其插件“Network Analyze”分析网络拓扑参数。

1.7 PPI 网络的拓扑分析和核心靶点的筛选

将 STRING 平台筛选出来的相互作用的蛋白基因输入 Cytoscape 3.7.1 软件 CytoNCA^[17] 插件中, 得到上述网络关系中的自由度中心性(DC)、介度中心性(BC)、接近中心性(CC)、特征向量中心性(EC)、网络中心性(NC)和局部边连通性(LAC)等指标, 筛选核心靶点。筛选标准: ①DC 值大于所有节点 DC 值中位数 2 倍的重要节点; ②其他几个指标大于所有节点中位数的节点, 即得到关键基因作为潜在生物标志物。

1.8 相对表达量分析及免疫组化验证蛋白表达

利用 GEPIA(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析潜在生物标志物在 STAD 组织、癌旁组织的基因相对表达量。通过 HPA 数据库(<http://www.proteinatlas.org>)分析潜在生物标志物在 STAD 组织与癌旁组织的蛋白质表达水平。输入关键基因的基因名, 选择“issue”或“pathology”检索该基因在正常组织或肿瘤组织中的典型图谱, 根据蛋白质在组织中的染色强度和染色细胞的百分比, 比较正常组织和肿瘤组织中蛋白表达的差异, 最后截取具有代表性的免疫染色图像。

1.9 成分-靶点分子对接

从 RSCB PDB 数据库下载潜在生物标志物的 2D 结构 PDB 格式文件, 运用 Pymol 软件移除靶蛋白中的配体和非蛋白分子后保存为 PDB 格式文件。运用 AutoDock Tools 1.5.6 软件去除水分子, 分离蛋白, 添加非极性氢, 计算 Gasteiger 电荷, 保存为 pdbqt 文件。从 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载筛选出关键化合物 2D 结构的 SDF 格式文件, 利用 AutoDock Tools 1.5.6 将 SDF 转化 pdbqt 文件, 最后运用 AutoDock Vina 进行对接。结合能小于 0 说明配体与受体可以自发结合, 目前对于活性分子的靶点筛选尚无统一标准, 这里选取结合能 ≤ -5.0 kJ/mol 的成分作为共有靶点治疗 STAD 的活性成分筛选依据。

2 结果

2.1 干姜黄芩黄连人参汤活性成分

通过 TCMSP 数据库, 输入干姜黄芩黄连人参汤中 4 味中药名称, 即干姜、黄芩、黄连、人参, 删除重复项后, 通过 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 筛选为条件筛选出活性化合物共 59 个, 其中干姜 5 个, 黄芩 29 个, 黄连 11 个, 人参 14 个。这 59 个化合物包括: beta-Sitosterol(β -谷甾醇)、sitosterol(谷甾醇)、berberine(小檗碱)、baicalein(黄芩素)等。再将 59

个化学成分输入 TCMSP 数据库，搜索的结果经过筛选后共得到 184 个药物潜在靶点。

2.2 干姜黄芩黄连人参汤治疗 STAD 作用靶点预测

通过 GenCards、OMIM、PharmGkb、TTD、DrugBank 等数据库分别收集到 STAD 潜在靶点 8758 个、170 个、314 个、37 个、41 个，剔除重复 267 个，共收集到 8953 个 STAD 相关靶点，见图 1a。将干姜黄芩黄连人参汤和 STAD 潜在靶点进行映射取交集共得到 163 个交叉靶点，即干姜黄芩黄连人参汤治疗 STAD 潜在作用靶点，见图 1b。

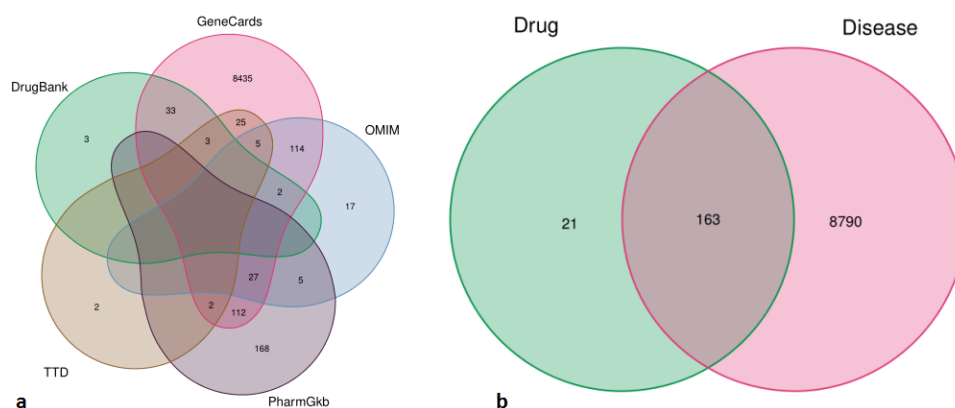


图 1 药物靶点-疾病靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of targets of herbs and disease

2.3 药材-化合物-靶点相互作用网络

药材-化合物-靶点网络总共包括 242 个节点和 673 条边，如图 1 所示，其中紫色圆形代表黄芩所属化合物，绿色圆形代表人参所属化合物，红色圆形代表干姜所属化合物，蓝色圆形代表黄连所属化合物，黄色代表靶标基因。本研究根据网络的拓扑学性质度值排序确定关键节点，网络中度值 > 中位数(成分度值中位数=9，靶点度值中位数=2)的成分有 27 个，成分有 32 个，靶点有 90 个。排名前 5 位的化合物分别是 MOL000098-槲皮素、MOL000422-山柰酚、MOL000173-汉黄芩素、MOL002714-黄芩素、MOL000358-β-谷甾醇，分别能与 116、47、37、28、24 个靶点蛋白发生相互作用；从靶点的角度，排名前 5 位的是 PTGS2、PTGS1、HSP90AB1、AR、NOS2，分别能与 46、42、37、27、24 个化合物发生相互作用。

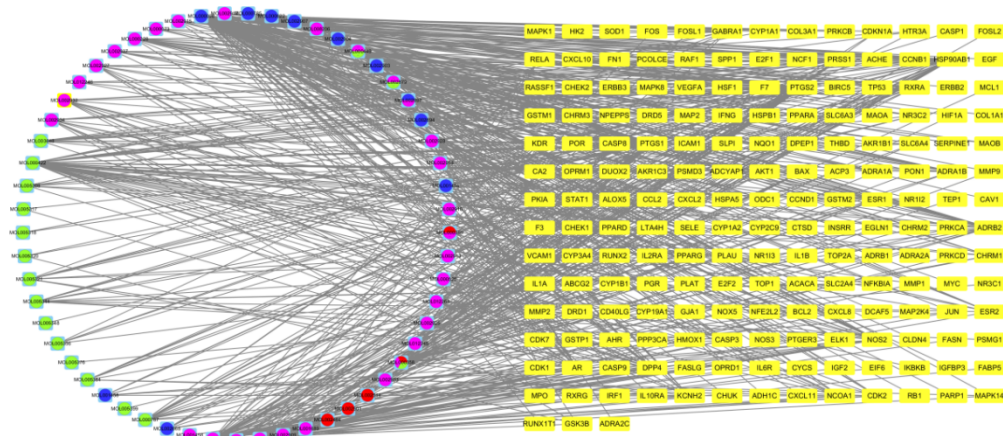


图 2 干姜黄芩黄连人参汤药材-化合物-靶点网络

Fig. 2 Ganjiang-Huangqin-Huanglian-Renshen-compound-target network

2.4 STAD 的差异表达基因

为进一步研究干姜黄芩黄连人参汤治疗 STAD 的作用机制，本研究从 TCGA 中下载并最终筛选出 32 例癌旁组织、375 例 STAD 组织的基因表达原始数据，共得到 6739 个差异表达基因，其中上调 3915 个、下调 2824 个，热图和火山图如图 3 所示。

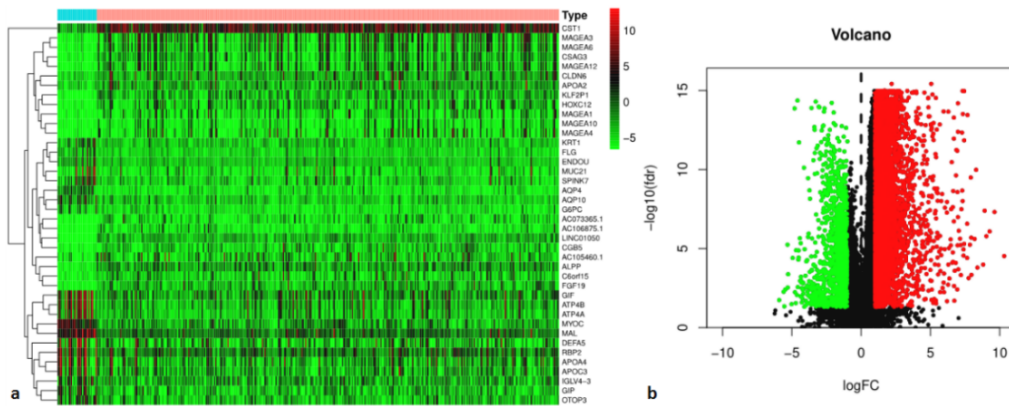


图 3 STAD 差异表达基因的热图和火山图

Fig. 3 Hot map and volcano map of STAD differential expression gene

2.5 基因模块选择和化合物作用靶点的确定

根据基因差异表达数据和临床特征数据使用 R 语言中 WGCNA 包进行权重基因共表达网络分析。选择年龄、性别、等级、分级、TNM 分期、生存状态、生存时间共 9 个临床特征进行相关性分析。为符合无尺度网络，设软阈值 $\beta=4$ ，通过层次聚类 and 基于最小模块至少 30 个基因的动态分支切割，识别出 20 个模块。然后，基于模块特征基因之间的相似性

以 0.75 为阈值，18 个模块合并为 16 个模块，绘制差异表达基因聚类树状图，如图 4a 所示。计算模块与临床数据的相关性，绘制热图，如图 4b 所示，青绿色(turquoise)、品红(magenta)、蓝色(blue)、红色(red)、灰色(grey)、紫色(purple)模块与年龄、等级、TNM 分期、生存状态、生存时间等临床特征相关性较高，表明它们在 STAD 发生中起着重要作用。将以上 6 个模块的靶点分别与化合物作用靶点对比，干姜黄芩黄连人参汤干预 STAD 的作用靶点主要集中在蓝色模块，二者相同基因共有 32 个。该模块与患者年龄呈负相关，与肿瘤等级呈正相关，提示蓝色模块中靶点与 STAD 进展有关。

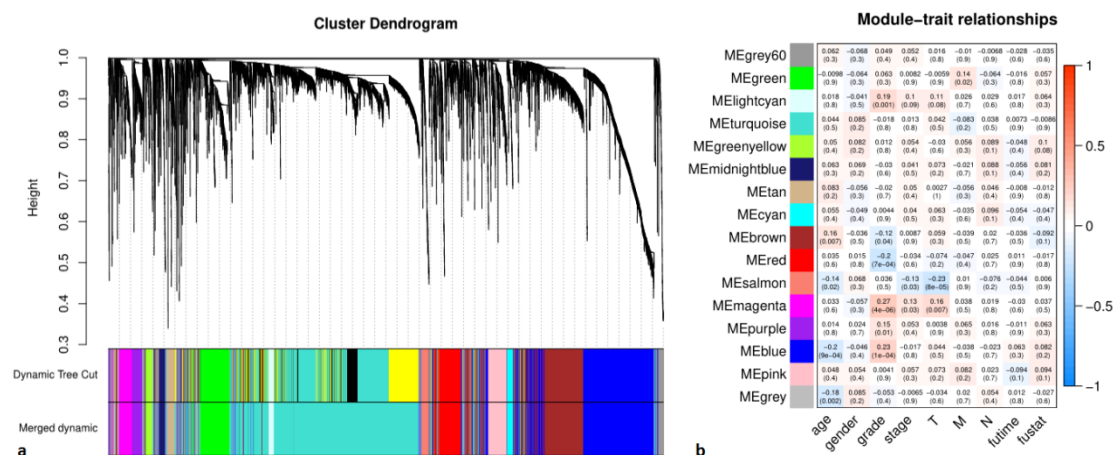


图 4 STAD 差异表达基因聚类树状图和基因模块与临床表征相关性热图

Fig. 4 Dendrogram of STAD differential expression gene cluster and Thermogram of correlation between gene module and clinical characterization

2.6 GO 和 KEGG 富集分析

利用 R 语言对 WGCNA 得到的共有靶点进行 Gene Ontology(GO)功能分析和 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG)信号通路分析，分子层面涉及的 GO 富集分析有 DNA 完整性检验点(DNA integrity checkpoint,8/32)、对金属离子的反应(response to metal ion,10/32)、有丝分裂 DNA 完整性检验点(mitotic DNA integrity checkpoint,7/32)等，气泡图见图 5a。KEGG 通路分析结果可知，排名靠前的涉及 p53 信号通路、细胞周期和细胞衰老等，气泡图见图 5b。

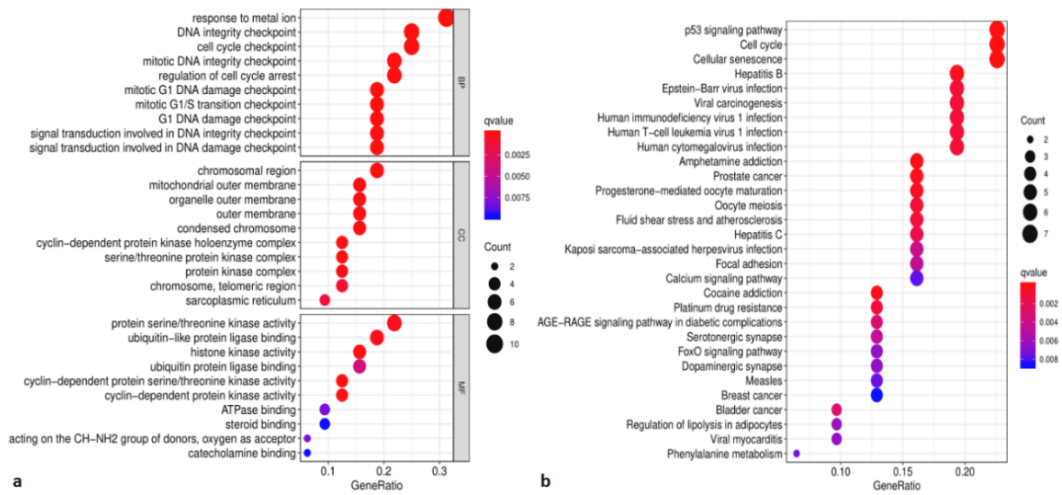


图 5 GO 和 KEGG 富集分析气泡图

Fig. 5 Bubble chart of GO analysis and KEGG analysis

2.7 抗 STAD 作用靶点的富集分析

将共有靶标蛋白导入 STRING 中，去除孤立靶点，得到联系紧密的蛋白质相互作用 (PPI) 网络图，见图 6a。经过筛选后得到 30 个靶点，利用 Cytoscape 3.7.1 中的 Network Analyze 插件对导出的 30 个靶点进行分析，得到图 6b，其中共涉及 30 个节点、113 条边，其中节点越大度值越大，边的粗细反应连接评分，边越粗评分越高，即关系越密切，颜色由蓝变黄程度与度值和介值均呈正相关。

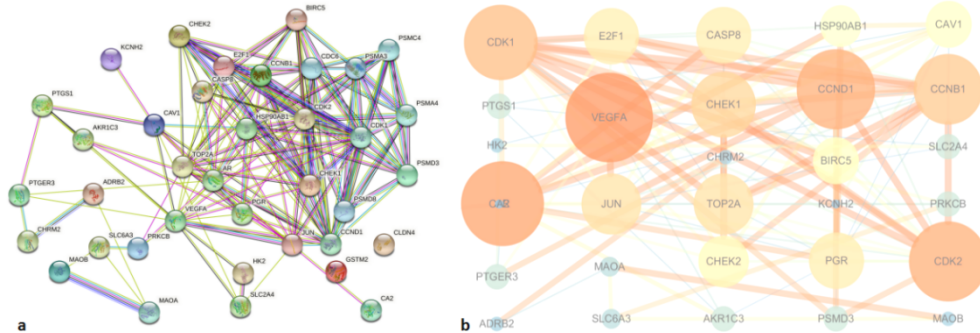


图 6 共有靶点 PPI 网络和 PPI 关键子网络

Fig. 6 PPI network of common targets and Key subnetwork for PPI network diagram

2.8 潜在生物标志物筛选

为进一步探究干姜黄芩黄连人参汤药理机制，将共有蛋白基因输入 Cytoscape3.7.1 软件的 CytoNCA 插件中，根据前文所述的筛选条件，初步得到一个 30 个节点、113 条边的 PPI 网络图，以上述条件进行筛选，得到一个 8 个节点、25 条边的 PPI 网络图，3 次筛选得到三个关键基因作为潜在生物标志物，分别为 VEGFA、CDK1、CCND1，其过程见图 7。

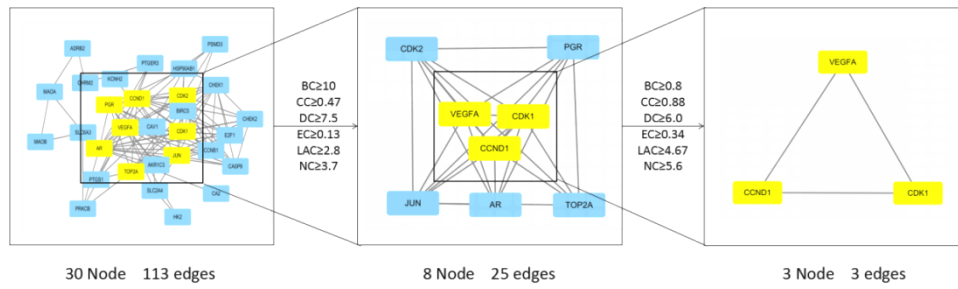


图 7 治疗胃癌关键节点的目标筛选策略图

Fig.7 Target screening strategy for key nodes for the treatment of STAD

2.9 潜在生物标志物的基因表达及免疫组化

与正常组织(癌旁组织)相比，STAD 组织中 VEGFA、CDK1、CCND1 基因的表达显著升高($P < 0.05$)，如图 8a 所示。HPA 数据库中 3 个蛋白的表达如图 8b 所示，抗体 CAB005429 在正常胃组织中 VEGFA 呈现高强度染色，在 STAD 组织中呈现高强度染色，染色细胞比例均大于 75%；抗体 CAB003799 在正常胃组织中 CDK1 呈现中等强度染色，而在 STAD 组织中呈现中等强度染色，染色细胞比例 25%~75%；抗体 CAB000024 在正常胃组织中 CCND1 呈低强度染色，染色细胞比例小于 25%，而在 STAD 组织中检测到 CCND1 呈中等强度染色，染色细胞比例 25%~75%。与如图 8a 中 VEGFA、CDK1、CCND1 基因表达水平基本一致，提示 VEGFA、CDK1、CCND1 可作为 STAD 潜在的生物标志物。

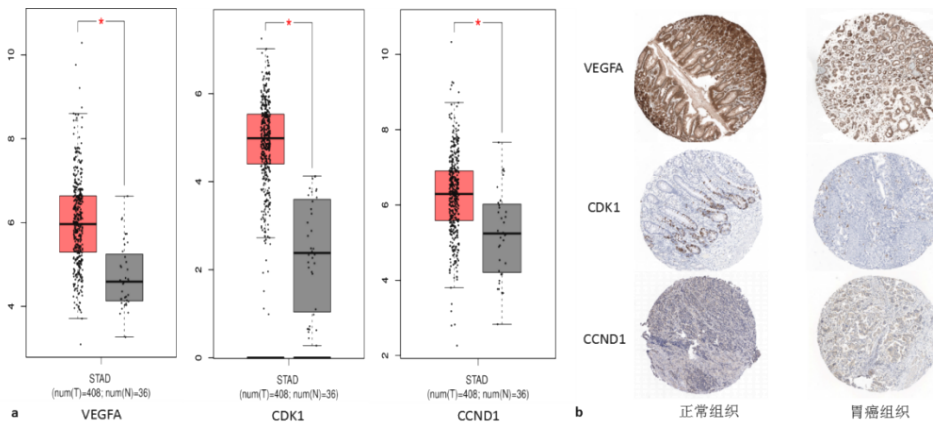


图 8 STAD 组织及正常组织的基因表达量箱线图及免疫组化图

Fig.8 Box diagram of gene expressions and immunohistochemistry diagram of STAD tissues and normal tissues

2.10 分子对接结果

一般认为配体与受体结合的构象稳定时能量越低，发生的作用可能性越大。将 VEGFA、CDK1、CCND1 与靶点网络中的化合物进行分子对接，结果如表 1 所示。由此可

见干姜黄芩黄连人参汤中的核心化学成分与 VEGFA、CDK1、CCND1 形成构象能量低，结构稳定，结合活性较高。化合物与蛋白的相互作用见图 9。

表 1 化合物与 VEGFA、CDK1、CCND1 的对接结合能

Table 1 Docking binding energy of compounds with CDC25A, AURKB and CDC25C

药物	化合物	英文名称	分子量	靶蛋白	PDB ID	结合能/(kJ/mol)
黄芩	汉黄芩素	wogonin	284.27	CCND1	2W9F	-30.96
黄芩	黄芩素	baicalein	270.24	VEGFA	3P9W	-32.64
黄连	槲皮素	quercetin	302.24	CDK1	4YC6	-36.40
黄芩	黄芩素	baicalein	270.24	CDK1	4YC6	-34.73
黄芩	千层纸素 A	oroxylin A	284.26	CDK1	4YC6	-33.89
人参	山奈酚	kaempferol	282.33	CDK1	4YC6	-34.31

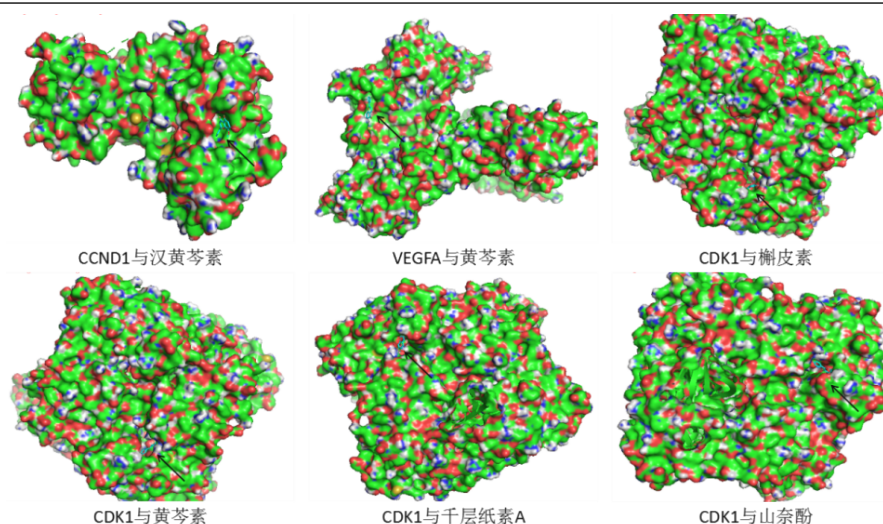


图 9 汉黄芩素、黄芩素、槲皮素、千层纸素 A、山奈酚与 VEGFA、CDK1、CCND1 的分子对接结果

Fig.9 Molecular docking patterns of VEGFA, CDK1 and CCND1 with wogonin, baicalein, quercetin, oroxylin A and kaempferol

3 讨论

近年来，将网络药理学与多种组学技术、生物信息学方法相结合，同时联合公共数据库如 TCGA、GEO 中的高通量数据，用于挖掘中药作用机制的研究受到广泛关注。本研究通过 WGCNA 联合网络药理学及分子对接方法，在分子层面揭示了干姜黄芩黄连人参汤抗胃癌的活性成分、作用靶点和信号通路，从中挖掘得到 3 个与胃癌的主要病理过程密切

相关的生物标志物(VEGFA、CDK1、CCND1),初步阐释了干姜黄芩黄连人参汤抗胃癌的作用机制可能与其协同调节胃癌中多个常见突变基因的表达有关。

血管内皮生长因子(VEGFA)是目前已知作用最强、专属性最高的促血管生长因子^[9]。VEGFA可以通过与内皮细胞上的血管内皮细胞受体(VEGFR)特异性的结合^[10],进而诱导内皮细胞的增殖、存活和迁移,来介导血管的生成。已有大量研究报道了胃癌组织中VEGFA异常表达与胃癌患者的微血管形成,肿瘤分期,预后密切相关^[11,12]。CDK1(Cyclin-dependent kinase 1)是一种周期蛋白依赖性蛋白激酶,是调控细胞周期的重要因子,由催化激酶亚基和细胞周期蛋白蛋白伴侣组成^[13]。CDK1在纺锤体形态发生和有丝分裂中起重要作用,在包括胃癌在内的大多数肿瘤中表达均增加,是癌症治疗中抑制剂的有效治疗靶标,可显著抑制肿瘤的生长^[14,15]。CyclinD家族(细胞周期蛋白)是细胞周期的正调节器,其中最重要的是细胞周期蛋白D1(CyclinD1, CCND1)。CCND1调节细胞周期不同阶段的进展,在细胞周期中起到特定作用。研究表明,CCND1基因多态性与多种肿瘤有相关性,包括乳腺癌、结直肠癌等^[16,17]。Kuo等^[18]通过对358例胃癌患者与358例健康者的研究中发现,CCND1 rs9344位点多态性与胃癌风险相关。

本研究显示,干姜黄芩黄连人参汤中的核心化学成分如槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、黄芩素等化合物可通过调控细胞周期和细胞衰老等方面发挥抗癌作用。同时,分子对接结果显示,槲皮素、汉黄芩素、黄芩素、千层纸素A、山柰酚等化合物与VEGFA、CDK1、CCND1形成构象能量低,结合活性较高,表明这些化合物可能通过调节该基因的表达发挥抗胃癌作用。槲皮素对多种胃癌细胞具有显著的抗增殖和促凋亡作用^[19]。山柰酚具有广谱的抗肿瘤活性,对胃癌MGC-803细胞的增殖有抑制作用^[20]。研究表明,槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、黄芩素等干姜黄芩黄连人参汤是抗STAD的主要活性成分,其中槲皮素、山柰酚等的作用靶点可能是VEGFA、CDK1、CCND1。

4 结论

综上所述,本研究通过WGCNA发现,VEGFA、CDK1、CCND1可能通过调节细胞周期和细胞凋亡等通路,在胃癌的发生与转移过程中发挥作用。应用网络药理学和分子对接的方法对干姜黄芩黄连人参汤中化学成分、作用靶点和其核心活性化合物以及与VEGFA、CDK1、CCND1结合能进行了探索性研究,从理论上验证了干姜黄芩黄连人参汤治疗胃癌是通过多成分、多靶点、多通路的协同作用来发挥疗效的。但由于本研究主要是从理论水平探讨,后期还需要进一步围绕药效学评价、代谢组学、临床疗效等开展实验研究,为干姜黄芩黄连人参汤治疗胃癌以及后期的药物开发提供坚实的依据。

参考文献:

[1] Fitzmaurice C, Abate D, Abbasi N, et al. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease

- Study[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(12): 1749-1768.
- [2] 陈冬平, 陈晓凡, 周旭, 等. 参苓白术散加减辅助治疗胃癌疗效和安全性的 Meta 分析[J]. *中国循证医学杂志*, 2019, 019(004): 457-463.
- [3] Yang Y, Ting W, Xiao L, et al. Immunoregulation of Shenqi Fuzheng Injection Combined with Chemotherapy in Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 512-518.
- [4] 孙凤娇, 李振麟, 钱士辉, 等. 干姜化学成分和药理作用研究进展[J]. *中国野生植物资源*, 2015(03): 40-43.
- [5] 拱宝香. 黄芩的药理分析及炮制方法研究[J]. *内蒙古中医药*, 2017, 36(003): 138-138.
- [6] 王影, 刘文娟, 崔瑛. 黄连现代研究进展[J]. *中医学报*, 2014, 000(011): 1642-1645.
- [7] 张彩 史. 人参化学成分和药理作用研究进展[J]. *食品与药品*(4 期): 300-304.
- [8] Langfelder P, Horvath S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis[J]. *Bmc Bioinformatics*, 2008, 9.
- [9] Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer[J]. *Oncology*, 2005, 69 Suppl 3: 4-10.
- [10] Ferrara N, Gerber H P, Lecouter J. The biology of VEGF and its receptors[J]. *Nature Medicine*, 2003, 9(6): 669-676.
- [11] Peng J, Shao N, Peng H, et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in esophageal carcinoma: a meta-analysis[J]. *J buon*, 2013, 18(2): 398-406.
- [12] Chen J, Tang D, Wang S, et al. High expressions of galectin-1 and VEGF are associated with poor prognosis in gastric cancer patients[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(3): 2513-2519.
- [13] García-Gutiérrez L, Bretones G, Molina E, et al. Myc stimulates cell cycle progression through the activation of Cdk1 and phosphorylation of p27[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 186-193.
- [14] Lee M H, Cho Y, Kim D H, et al. Menadione induces G2/M arrest in gastric cancer cells by down-regulation of CDC25C and proteasome mediated degradation of CDK1 and cyclin B1[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(12): 5246-5255.
- [15] Zheng H P, Huang Z G, He R Q, et al. Integrated assessment of CDK1 upregulation in thyroid cancer[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(12): 7233-7254.
- [16] Bedewy A M, Mostafa M H, Saad A A, et al. Association of cyclin D1 A870G polymorphism with two malignancies: acute lymphoblastic leukemia and breast cancer[J]. *J buon*, 2013, 18(1):

227-238.

[17] Huang C Y, Tsai C W, Hsu C M, et al. The significant association of CCND1 genotypes with colorectal cancer in Taiwan[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(8): 6533-6540.

[18] Kuo H W, Huang C Y, Fu C K, et al. The significant association of CCND1 genotypes with gastric cancer in Taiwan[J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(9): 4963-4968.

[19] Li H, Chen C. Quercetin Has Antimetastatic Effects on Gastric Cancer Cells via the Interruption of uPA/uPAR Function by Modulating NF- κ b, PKC- δ , ERK1/2, and AMPK α [J]. *Integr Cancer Ther*, 2018, 17(2): 511-523.

[20] 杜标炎, 周瑶, 谭宇蕙, 等. 山奈酚对人胃癌 MGC-803 细胞的生长抑制及诱导凋亡作用[J]. *肿瘤*, 2010(06): 477-480.