

• 肝脏肿瘤 •

基于网络药理学探析 5 种经典方剂治疗肝细胞癌的作用机制

程秋骆^{1,2}, 刘 柳^{1,2}, 白长川³, 丛庆伟^{1,2}, 朱 英^{1,2}

1 大连医科大学附属第一医院 中西医结合肝病中心, 辽宁 大连 116011; 2 大连医科大学 中西医结合学院, 辽宁 大连 116044; 3 大连市中医医院 中医科, 辽宁 大连 116013

摘要:目的 运用网络药理学及分子对接技术探究逍遥散合四君子汤、茵陈蒿汤、龙胆泻肝汤合下瘀血汤、五皮饮合四君子汤、一贯煎治疗肝细胞癌的作用机制。方法 运用 TCMS、TCMID、BATMAN-TCM、TCM-MESH 等数据库筛选中药有效成分并预测其作用靶点,通过 TTD、Drugbank、Disgenet、Liverome、OncoDB、HCC、GEO 等数据库挖掘肝癌相关靶点;将药物和疾病靶点进行映射获得交集靶点,通过可视化软件 Cytoscape 3.7.1 构建核心成分-交集靶点网络以及蛋白相互作用网络,筛选核心成分及关键基因并在 GEPIA 数据库进行生存分析,将筛选出的活性成分和关键基因导入 DockThor 在线网站进行分子对接。此外,利用 David 数据库对交集靶点进行基因本体 (GO) 富集分析以及基因百科全书 (KEGG) 通路分析。结果 经过筛选去重获得 5 种经典方剂活性成分分别为 110、19、154、121、51 个,药物作用靶点分别为 7426、1435、9544、6619、2427 个。筛选去重后获得肝癌疾病靶点 4001 个。5 种方剂经典方剂的成分靶点与肝癌疾病靶点的交集靶点分别为 260、169、276、242、192 个,共同 Hub 基因在 GEPIA 在线网站生存分析结果为 PIK3CA、SRC、MAPK1、MAPK3 (P 值均 <0.05)、AKT1 ($P>0.05$)。5 种方剂共同活性成分是槲皮素,其中 3 种经典方剂 (逍遥散合四君子汤、龙胆泻肝汤合下瘀血汤、五皮饮合四君子汤) 的共同活性成分是异补骨脂黄酮、Kanzonol W。分子对接结果从总体趋势来看 3 种成分与 PIK3CA、SRC 结合能力相对较好。GO 富集分析显示这些靶点共同参与对药物的反应、蛋白质磷酸化、炎症反应、血管生成等生物学过程。KEGG 富集分析显示共同参与的通路为癌症通路、PI3K-AKT 通路、MAPK 通路、Ras 通路、HIF-1 通路、乙型肝炎通路、丙型肝炎通路。结论 槲皮素、异补骨脂黄酮和 Kanzonol W 抗肝癌具有多靶点、多通路的潜在作用机制。

关键词:癌,肝细胞;网络药理学;信号传导

基金项目:国家自然科学基金 (81673728)

中图分类号:R735.7

文献标志码:A

文章编号:1001-5256(2021)08-1848-08

Mechanism of action of five classic prescriptions in treatment of hepatocellular carcinoma based on network pharmacology

CHENG Qiuluo^{1,2}, LIU Liu^{1,2}, BAI Changchuan³, CONG Qingwei^{1,2}, ZHU Ying^{1,2}. (1. Liver Disease Center for Combined TCM and Western Medicine, The First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116011, China; 2. Institute (College) of Integrative Medicine, Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116044, China; 3. Department of TCM Dalian Hospital of Traditional Chinese Medicine, Dalian, Liaoning 116013, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of action of Xiaoyao powder combined with Sijunzi decoction, Artemisia capillaris Thunb. decoction, Longdan Xiegan decoction combined with Xiayuxue decoction, Wupi decoction combined with Sijunzi decoction, and Yiguan decoction in the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** Databases including TCMS, TCMID, BATMAN-TCM, and TCM-MESH were used to screen out effective components and predict their targets, and databases including TTD, Drugbank, Disgenet, Liverome, OncoDB, HCC, and GEO were used to investigate HCC-related targets. The drug and disease targets were mapped to obtain the intersecting targets, and the visualization software Cytoscape 3.7.1 was used to construct the core component-intersecting target network and the protein-protein interaction (PPI) network. The core components and key genes were screened out and a survival analysis was performed in the GEPIA database. The active components and key genes screened out were imported into the DockThor online website for molecular docking. In addition, David database was used to perform gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis of the intersecting targets. **Results** The analysis showed that 110, 19, 154, 121, and 51 active components, respectively, were obtained for the above five classic prescriptions, and the numbers of drug targets were 7426, 1435, 9544, 6619, and 2427, respectively. Finally 4001 HCC disease targets were screened out. There were 260, 169, 276, 242, and 192 intersecting targets, respectively, between the five prescriptions and the HCC disease targets, and the survival analysis on the GEPIA online website obtained the common hub genes of PIK3CA, SRC, MAPK1, MAPK3 (all $P<0.05$) and AKT1 ($P>0.05$). Quercetin was the common active component of the five prescriptions, and isobavachin and Kanzonol W were the com-

mon active components of Xiaoyao powder combined with Sijunzi decoction, Longdan Xiegan decoction combined with Xiayuxue decoction, and Wupi decoction combined with Sijunzi decoction; the results of molecular docking showed that the above three components had a strong ability of binding to PIK3CA and SRC. GO enrichment analysis showed that these targets were involved in various biological processes including drug response, protein phosphorylation, inflammatory response, and angiogenesis, and KEGG enrichment analysis showed that the common pathways involved were cancer pathway, PI3K – Akt signaling pathway, MAPK signaling pathway, Ras signaling pathway, HIF – 1 signaling pathway, hepatitis B pathway, and hepatitis C pathway. **Conclusion** Quercetin, isoflavone, and Kanzonol W have the potential mechanism of action involving multiple targets and pathways in the treatment of HCC.

Key words: Carcinoma, Hepatocellular; Network Pharmacology; Signal Transduction

Research funding: National Natural Science Foundation of China (81673728)

肝癌是世界主要高发癌症,70% ~ 90% 的病理类型为肝细胞癌(HCC)^[1],是癌症导致死亡的第二大常见原因^[2]。大多数 HCC 患者在临床Ⅲ或Ⅳ期才被诊断,而中晚期肝癌除索拉非尼、免疫检测点治疗以及经动脉化疗栓塞外的可用治疗手段非常稀少^[3-5]。目前,HCC 患者中位总生存期为9个月,5年生存率约为10%^[6]。

为了寻找新的治疗方案以及改善患者生活质量,中医药在癌症中的运用越来越得到重视。中医药具有多组分、多靶点和协同作用的特征^[7]。网络药理学是将中医药和现代医学结合起来的一个重要桥梁,从整体角度揭示药物作用机制,具有完整性、协同作用和动态特征,将单一靶点,单一药物转变为多靶点,多组分模式^[8],与中医整体理论相吻合^[9]。

中医认为肝癌属于“肥气、痞气、积气、肝积、鼓胀、黄疸”范畴,多由于脏腑气血耗伤,情志内伤,脾虚湿盛,痰湿结聚,使全身气机失调,邪毒由表入里,气、血、湿、热、痰、瘀互结而成。《原发性肝癌诊疗规范(2019年版)》^[10]中将肝癌分为五大证型:肝郁脾虚、肝胆湿热、肝热血瘀、脾虚湿困、肝肾阴虚。其代表方剂分别为逍遥散合四君子汤(出自《太平惠民和剂局方》)、茵陈蒿汤(出自《伤寒论》)、龙胆泻肝汤(出自《医方集解》)、下瘀血汤(出自《金匮要略》)、五皮饮(出自《证治准绳》)、一贯煎(出自《续名医类案》)。基于此,本研究拟对5种方剂进行网络药理及分子对接筛选出相应的活性成分以及活性靶点。

1 材料与方法

1.1 中药活性成分筛选及药物靶点预测 汇总5种方剂中各单味药的标准中药名称在TCMSP(<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)、TCMID(<http://www.mega-bionet.org/tcmid>)、BATMAN – TCM(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm>)、TCM – MESH(<http://mesh.tcm.micr bioinformatics.org>)数据库以及相关研究文献搜索出的全部化学成分,根据药代动力学参数:口服生物利用度 $\geq 30\%$ 和类药性指数 ≥ 0.18 筛选出符合条件的候选活性成分。以活性成分全称为检索词在Pubchem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库中检索其 Carcinoma

Smiles 号,然后将其导入 Swiss Target Prediction(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)数据库对活性成分靶点进行预测。

1.2 肝癌疾病靶点预测 以“Liver cancer”为关键词在TTD(<https://db.idrblab.org/ttd>)、Drugbank(<https://www.drugbank.ca>)、Disgenet(<http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu/home>)、Liverome(<http://liverome.kobic.re.kr/index.php>)、OncoDB.HCC(<http://oncodb.hcc.ibms.sinica.edu.tw/index.htm>)数据库检索,在GEO(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)数据库筛选出同时含有肝癌组织和正常组织的人源基因芯片,文件编号:GSE121248、GSE58208,使用GEO2R在线分析,以adj. P. Val < 0.05 为条件,筛选出肝癌组织与正常组织的差异基因。

1.3 构建“活性成分 – 作用靶点”网络 通过 Venny 绘图软件,将肝癌疾病靶点与活性成分靶点进行映射,从而获得5种辨证方剂治疗肝癌的潜在作用靶点。将5种方剂的活性成分以及其治疗肝癌的潜在作用靶点分别导入Cytoscape3.7.1软件中,节点代表5种方剂中活性成分以及治疗肝癌潜在靶点;边展现了5种方剂活性成分与作用靶点之间的联系。运用Cytoscape软件中“Network Analyzer”功能对5种方剂的活性成分 – 作用靶点网络分别进行分析,选取连接度较高的活性成分作为关键活性成分,根据连接度调节网络中的相应节点大小、颜色的深浅和排序。

1.4 PPI 网络构建及 Hub 基因筛选 为了明确5种方剂中成分预测靶点与肝癌作用靶点之间的相互作用,将映射后的共同靶基因上传至STRING在线网络平台(<https://string-db.org/>),设置蛋白种类为“人”,设置置信度 > 0.9,从而获得蛋白互作关系,将结果导入Cytoscape 3.7.1软件中,并使用软件中“Cytohubber”的“Degree”功能筛选出度值排名前5的Hub基因。

1.5 Hub 基因生存分析 将筛选出的 Hub 基因在GEPIA在线网站(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)上进行生存分析,得出结果 $P < 0.05$ 则提示该基因为肝癌的预后靶点,提示该基因与患者预后的关系。

1.6 核心活性成分与 Hub 基因分子对接验证 在 Pubchem 搜索核心活性成分,下载其 3D 分子结构,保存为 sdf 格式,再从 PDB 数据库下载关键蛋白的 3D 晶体结构,保存为 PDB 格式。将活性成分及关键蛋白的结构文件导入 DockThor (<https://dockthor.lncc.br/v2/>) 网站进行分子对接,从而验证网络药理学筛选结果,分子对接结合能越小表示蛋白和配体两者之间具有较好的结合活性。

1.7 GO 生物学功能富集和 KEGG 基因通路分析 将治疗肝癌潜在基因信息导入 DAVID 数据库,然后选择生物学过程、分子功能、细胞组成、KEGG 信号通路进行 GO 生物学功能富集分析以及 KEGG 通路分析,将与本疾病无关通路删除,选取 $P < 0.05$ 的前 15 条生物学过程以及前 10 条通路。

2 结果

2.1 5 种经典方剂活性成分及靶点筛选结果 逍遥散合四君子汤活性成分共计 110 (单位:个,以下均如此),其中柴胡 17,白芍 8,当归 2,薄荷 9,生姜 4,甘草 66,茯苓 9,白术 2,人参 5,活性成分靶点共计 7426。茵陈蒿汤活性成分共计 19,其中茵陈 8,栀子 5,大黄 8,活性成分靶点共计 1435。龙胆泻肝汤合下瘀血汤活性成分共计 154,其中柴胡 17,栀子 5,桃仁 12,大黄 8,当归 2,甘草 66,木通 5,泽泻 6,车前子 6,黄芩 19,龙胆草 8,土鳖虫 4,生地黄 6,活性成分靶点共计 9544。五皮饮合四君子汤活性成分共计 121,其中人参 5,白术 2,茯苓 9,甘草 66,陈皮 5,桑白皮 17,大腹皮 1,茯苓皮 3,生姜皮 17,活性成分靶点共计 6619。一贯煎活性成分共计 51,其中北沙参 13,枸杞 31,川楝子 9,当归 6,生地黄 6,麦冬 3,活性成分靶点共计 2427。

GEO 数据库筛选出肝癌组织与正常组织的差异基因 3422 个,其他数据库筛选出 655 个肝癌疾病靶点,去除重复后筛选出肝癌疾病靶点共计 4001 个。5 种经典方剂的成分靶点与肝癌疾病靶点的交集靶点分别为 260、169、276、242、192 个(图 1)。

2.2 “活性成分-作用靶点”网络可视化分析 利用 Cytoscape 软件进行网络可视化是网络药理学分析的关键部分,选取平均自由度到最大自由度之间的节点构建“活性成分-作用靶点”网络,如附录 1 所示,图中圆形节点代表活性成分,菱形节点代表交集靶点,各个节点的大小代表 Degree 值的大小,各个节点的透明度根据 Degree 值的大小从低到高排列。如表 1 所示,前 4 种方剂取自由度 > 40 的节点,一贯煎取自由度前 5 的节点,逍遥散合四君子汤各活性成分度值中位数为 30,茵陈蒿汤各活性成分度值中位数为 36,龙胆泻肝汤合下瘀血汤各活性成分度值中位数为 35,五皮饮合四君子汤各活性成分度值中位数为 28,一贯煎中各活性成分度值中位数为 18,总结后发现槲皮素是 5 种经

典方剂的共同成分且对应度值大于其对应方剂中活性成分自由度中位数,异补骨脂黄酮和 Kanzonol W 是逍遥散合四君子汤、龙胆泻肝汤合下瘀血汤以及五皮饮合四君子汤的共同成分且度值大于其对应方剂中活性成分自由度中位数。

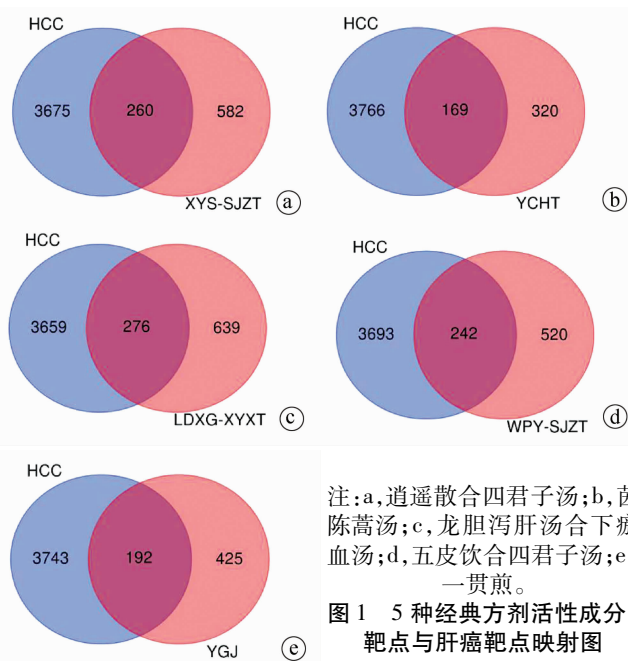


图 1 5 种经典方剂活性成分靶点与肝癌靶点映射图

2.3 PPI 网络及 Hub 基因筛选结果 通过 PPI 网络筛选出 5 种经典方剂治疗肝癌潜在的 5 个 Hub 基因,如附录 2 所示,绿色靶点分别代表 5 种经典方剂治疗肝癌潜在作用靶点,右侧 5 个靶点根据度值大小依次由深到浅从上向下排列。度值排名前 5 的基因分别为 PIK3CA、SRC、AKT1、MAPK1、MAPK3,每个靶点具体度值见表 2。

2.4 生存分析结果 通过 GEPIA 数据库的分析,由于 AKT1 的最终结果 $P > 0.05$,所以暂不将其视为肝癌的预后靶点,剩余 4 个靶点 P 值均 < 0.05 ,可视为肝癌预后靶点,降低其表达可改善患者的生存预后。另外,本课题组前期实验研究^[11]发现 LOXL2 也是肝癌的调控靶点,且为 SRC 的上游基因,所以将 LOXL2 也加入其中,分析结果如图 2 所示。

2.5 分子对接结果 5 种经典方剂治疗肝癌的共同成分为槲皮素,其中 3 种方剂的共同成分为异补骨脂黄酮和 Kanzonols W。其治疗肝癌潜在的 Hub 基因 5 个,其中有 4 个可暂定为肝癌预后靶点,加上 LOXL2 基因,共计 5 个靶蛋白与 3 种活性成分进行分子对接,如表 3 所示。图 3 显示 Kanzonols W 与 SRC 的结合能力最强,其次为槲皮素和异补骨脂黄酮。从总体趋势来看 3 种成分与 PIK3CA、SRC、LOXL2 结合能力相对较好。

表 1 5 种经典方剂度值靠前成分及其 MOLID 编号

项目	逍遥散合 四君子汤	茵陈蒿汤	龙胆泻肝汤合 下瘀血汤	五皮饮合 四君子汤	一贯煎
自由度中位数	30	36	35	28	18
成分 MOLID 编号及度值	MOL004945 异补骨脂黄酮 (度值:43)	MOL001406 藏花酸 (度值:42)	MOL000552 Tenaxin I (度值:44)	MOL004945 异补骨脂黄酮 (度值:43)	MOL005384 苏奇内酯 (度值:43)
	MOL004820 Kanzonol W (度值:42)	MOL008041 Eupatolitin (度值:41)	MOL002932 Panicolin (度值:44)	MOL004820 Kanzonol W (度值:42)	MOL000098 槲皮素 (度值:38)
	MOL001689 刺槐素 (度值:42)	MOL008040 泽兰素 (度值:41)	MOL004945 异补骨脂黄酮 (度值:43)	MOL000098 槲皮素 (度值:41)	MOL002056 蛇菰宁 (度值:37)
	MOL002881 香叶木素 (度值:41)	MOL000354 异鼠李素 (度值:41)	MOL002925 5,7,2',6'-四羟基黄酮 (度值:43)		MOL009650 莨菪碱 (度值:28)
	MOL000098 槲皮素 (度值:38)	MOL000098 槲皮素 (度值:38)	MOL004820 Kanzonol W (度值:42)		MOL008647 N-反式-阿魏酸酯 (度值:28)
			MOL000098 槲皮素 (度值:41)		

表 2 5 种经典方剂 PPI 网络中 Hub 基因度值

方剂	逍遥散合 四君子汤	茵陈蒿汤	龙胆泻肝汤合 下瘀血汤	五皮饮合 四君子汤	一贯煎
靶点	PIK3CA(度值:51)	SRC(度值:36)	PIK3CA(度值:49)	SRC(度值:48)	MAPK1(度值:36)
	MAPK1(度值:48)	PIK3CA(度值:36)	MAPK1(度值:48)	PIK3CA(度值:48)	PIK3CA(度值:35)
	SRC(度值:48)	MAPK1(度值:34)	SRC(度值:45)	MAPK1(度值:43)	AKT1(度值:34)
	AKT1(度值:43)	MAPK3(度值:28)	MAPK3(度值:44)	MAPK3(度值:42)	SRC(度值:34)
	MAPK3(度值:43)	AKT1(度值:26)	AKT1(度值:43)	AKT1(度值:42)	MAPK3(度值:31)

表 3 5 种经典方剂关键活性成分与关键基因的分子对接结果

序号	活性成分	相对分子质量 (g/mol)	基因(蛋白库编号)				
			PIK3CA (3ZIM)	MAPK1 (3W55)	MAPK3 (4QTB)	SRC (3EL7)	LOXL2 (5ZE3)
1	槲皮素	302.2	-7.384	-7.220	-6.522	-8.484	-6.460
2	异补骨脂黄酮	324.4	-7.398	-7.203	-7.109	-7.433	-7.219
3	Kanzonol W	336.3	-7.901	-7.454	-7.330	-9.191	-7.567

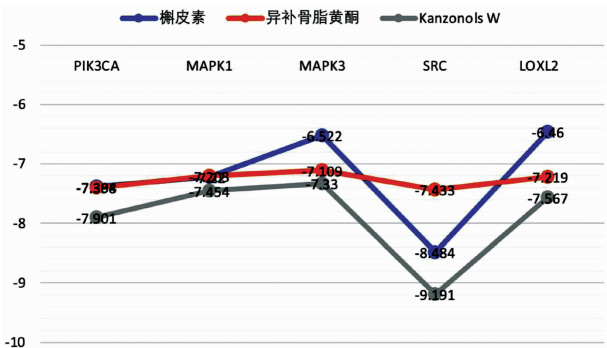


图 3 5 种方剂关键活性成分与关键靶点分子对接评分统计图

2.6 Hub 基因参与的生物学功能及通路富集分析 5 种经典方剂治疗肝癌的潜在靶点进行 GO 富集和 KEGG 通路分析结果如下:逍遥散合四君子汤 GO 结果 806(单位:条,以下均如此),KEGG 通路 113;茵陈蒿汤 GO 结果 554,KEGG 通路 106;龙胆泻肝汤合下瘀血汤 GO 结果 826,KEGG 通路 120;五皮饮合四君子汤 GO 结果 806,KEGG 通路 112;一贯煎 GO 结果 720,KEGG 通路 109。对各结果的 *P* 值进行排序后选取 GO 结果前 10 条进行柱状图展示,包括生物进程、细胞组成以及分子功能,如图 4 所示。KEGG 通路选

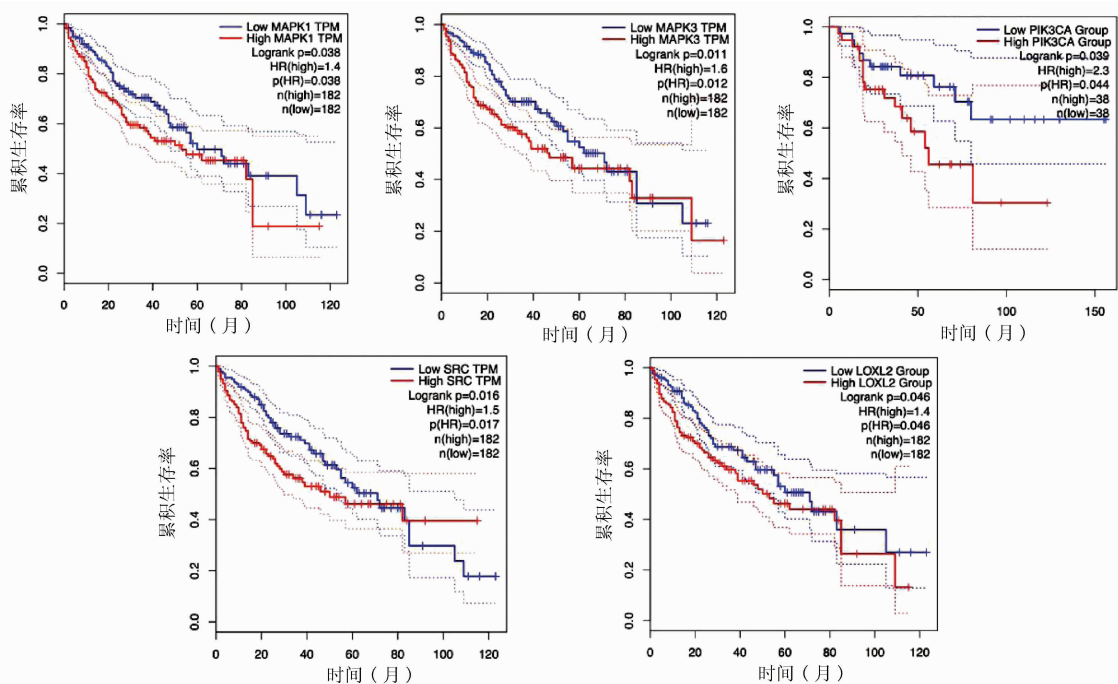


图 2 5 个靶蛋白基因表达与肝癌预后关系

取前 15 条进行气泡图展示如图 5 所示。深入分析 5 种方剂的结果,发现其共同参与的生物学过程是对药物的反应、蛋白质磷酸化、炎症反应、血管生成;细胞组成是胞质溶胶、细胞器、细胞质、蛋白质复合物;分子功能是蛋白激酶活性、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性、ATP 结合、蛋白质结合。共同调控的 KEGG 通路为癌症通路、PI3K - AKT 通路、MAPK 通路、乙型肝炎通路、丙型肝炎通路。

3 讨论

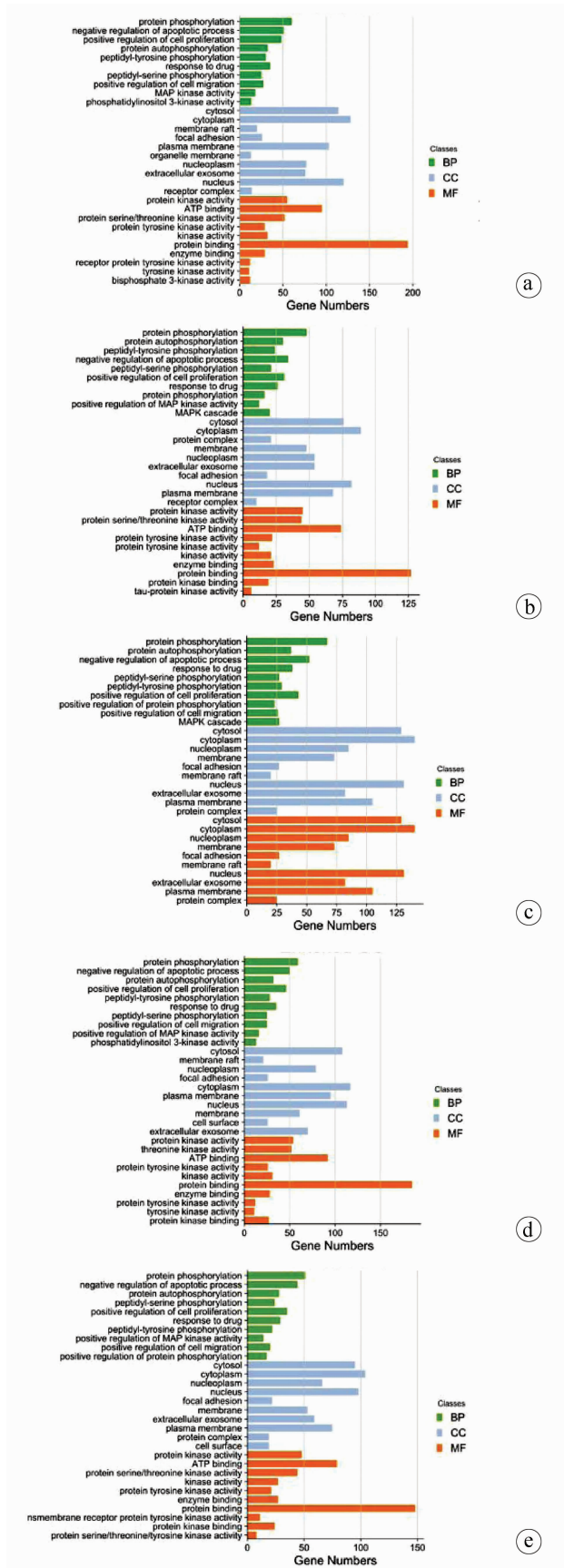
终末期肝癌在临床较为常见,经循证医学研究^[12-15]发现该阶段中医证型多以血瘀证和肝肾阴虚证为主,所以本研究也从血瘀证和肝肾阴虚证为重点研究对象,对“活性成分 - 作用靶点”网络拓扑结构经行分析后发现槲皮素为 5 种方剂的共同活性成分,度值均大于节点的中位数,异补骨脂黄酮和 Kansonol W 为肝郁脾虚、肝热血瘀、脾虚湿困代表方剂的共同有效成分且度值大于节点中位数,最终选择槲皮素、异补骨脂黄酮和 Kansonol W 为重点研究成分。

槲皮素和异补骨脂黄酮属于常见的天然黄酮类化合物,两者均具有良好的抗肿瘤作用。其中槲皮素的生物学效应包括抗氧化、抗炎、抗增殖、抗血管生成的作用,也有着抗肿瘤的作用,其抗肿瘤作用机制包括调节 PI3K/AKT/mTOR、Wnt/ β - catenin、MAPK/ERK1/2 途径来促使细胞活力丧失,促使细胞自噬能力以及诱导细胞凋亡^[16-19]。槲皮素在体内外实验^[20]中表明其有着良好的抑制 HepG2 肝癌细胞增殖以及促进其凋亡的作用。异补骨脂黄酮在抗肿瘤及免疫调节具有良好的作用且可以

直接抑制 SRC 激酶的活性^[21],且有实验研究^[22]证实异补骨脂黄酮有抑制 HepG2 细胞增殖的作用。Kansonol W 是甘草的活性成分,有研究^[23]证实该成分对 HepG2 细胞的增殖有抑制作用,但由于其提取工艺较为复杂,其研究实行相对困难。

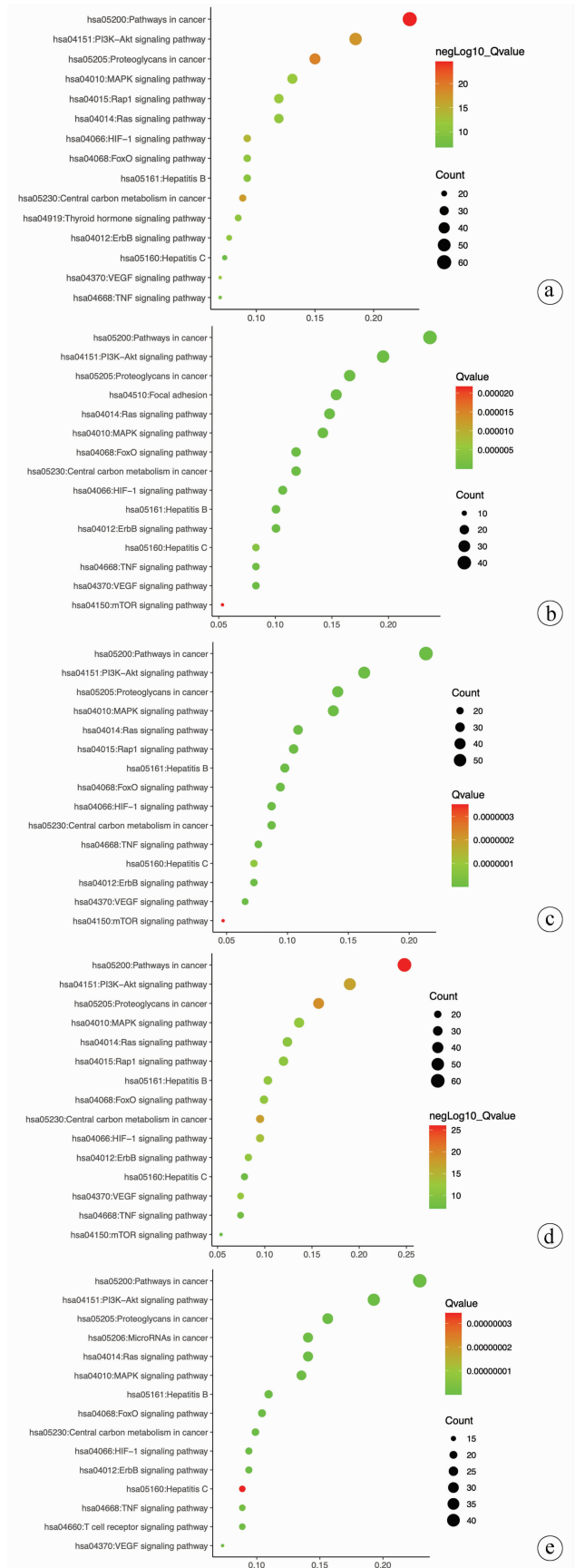
本课题组前期研究^[11]的重点基因 LOXL2 能促进肝癌细胞的侵袭、转移,对肝癌的发生发展有着较为重要的作用,所以将该基因纳入研究中。PIK3CA、SRC、MAPK1、MAPK3、LOXL2 与肝癌预后不良有关,其高表达与肝癌患者的总体生存不良有关。将上述 5 个基因与槲皮素、异补骨脂黄酮、Kansonol W 分子对接总体趋势提示 3 种成分与 PIK3CA、SRC、LOXL2 结合能力相对较好。并且搜索 5 个靶蛋白相关文献后发现均与肝癌有相关性,从而提示该研究方法是科学可行的。

非受体酪氨酸蛋白激酶 Src(proto - oncogene tyrosine - protein kinase Src, Src),其编码的蛋白归属于 Src 家族激酶(SFKs),研究^[24]证实,人类 SRC 的基因产物 C - Src 通过调节肿瘤细胞的凋亡、增殖、侵袭、迁移与耐药性参与了肿瘤的恶性发展并促进了癌症的发生进展。赖氨酰氧化酶样 2(lysyl oxidase - like 2, LOXL2)通过使 FAK/SRC 信号通路活化而介导上皮细胞间充质转化(epithelial - mesenchymal transition, EMT)^[25],表明 LOXL2 在上皮细胞可塑性方面有着非常规的作用,通过 EMT 上皮细胞将获得较高的迁移与侵袭及抗凋亡作用,从而在恶性肿瘤的发生发展转移的病理过程发挥着至关重要的作用。就 LOXL2 基因而言,已经有研究证实其与 HCC 的不良预后具有相关性,其具体机制可能是通过该基因的过度表达



注:a,逍遥散合四君子汤;b,茵陈蒿汤;c,龙胆泻肝汤合下瘀血汤;d,五皮饮合四君子汤;e,一贯煎。

图4 GO 富集分析柱状图



注:a,逍遥散合四君子汤;b,茵陈蒿汤;c,龙胆泻肝汤合下瘀血汤;d,五皮饮合四君子汤;e,一贯煎。

图5 KEGG 通路富集分析气泡图

从而增加 SNAIL 的表达,最终促使血管生成拟态形成和肿瘤的转移,而血管生成拟态是已知肝癌发生的 3 种微循环模式其中之一,是肿瘤微环境中血管生成的一种新形式,一般恶性程度较高且容易转移^[26]。C-Src 与受体激酶发挥协同作用,从而传导下游如 PI3K/PTEN/Akt 最终起到调节增殖、侵袭、转移和血管生成的作用。磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α 亚型 (Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit α isoform, PIK3CA) 隶属于 PI3K/AKT/mTOR 通路,研究^[27]证实该通路是肝癌发生的有效诱导因子且 PIK3CA 基因具有多态性,基因之间单独或协同作用可以增加肝癌发生的风险。因此,PIK3CA 是 SRC 的下游因子,LOXL2 通过激活 FAK/SRC 通路而介导 EMT,3 个基因之间存在一定的联系且都被证实与肝癌的发生发展具有相关性。此外,对 5 种经典方剂治疗肝癌的潜在基因 KEGG 富集分析可知代谢通路主要发生在 PI3K-AKT、MAPK、Ras、HIF-1 通路,这些通路与肝癌的发生及治疗密切相关,这些潜在基因还参与了乙型肝炎、丙型肝炎以及癌症通路。

综上所述,本文以 5 种经典方剂治疗肝癌的潜在作用靶点为对象,利用网络药理学技术分析了其关键活性成分、关键靶点及信号通路,并联合分子对接技术验证了相关成分与肝癌靶点的相互作用关系。初步揭示了槲皮素、异补骨脂黄酮、Kanzonl W 可能涉及到多靶点、多通路、多过程协同的抗肝癌特点,为后续深入研究其抗肝癌作用机制提供了参考方向。

利益冲突声明:本文不存在研究者、伦理委员会成员、受试者监护人以及与公开研究成果有关的利益冲突。

作者贡献声明:程秋骆负责文章撰写,文献查找与整理,并撰写初稿;刘柳、丛庆伟参与文章网络药理学部分数据查找并检索相关文献;白长川负责中医思路部分指导;朱英负责拟定写作思路,指导撰写文章并最后定稿。



附录 1~2 见二维码

参考文献:

- [1] TORRE LA, BRAY F, SIEGEL RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [2] FLORES A, MARRERO JA. Emerging trends in hepatocellular

carcinoma: Focus on diagnosis and therapeutics [J]. Clin Med Insights Oncol, 2014, 8: 71-76. DOI: 10.4137/CMO.S9926.

- [3] SONG HX, QIAO F, SHAO M. Research advances in traditional Chinese medicine treatment for primary liver cancer [J]. J Clin Hepatol, 2016, 32(1): 174-177. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2016.01.038.
- 宋慧娟, 乔飞, 邵铭. 中医药治疗原发性肝癌的研究进展 [J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(1): 174-177. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2016.01.038.
- [4] FU YZ, XU L. Advances in multimodality therapy for hepatocellular carcinoma [J]. J Clin Hepatol, 2020, 36(10): 2179-2183. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2020.10.004.
- 傅毅振, 徐立. 肝细胞癌综合治疗进展 [J]. 临床肝胆病杂志, 2020, 36(10): 2179-2183. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2020.10.004.
- [5] GAO YR, CHEN SJ, HOU YW, et al. Clinical effect of Huaier Granule sequential with radiofrequency ablation and TACE in treating primary hepatic carcinoma [J]. J Changchun Univ Chin Med, 2020, 36(4): 684-687. DOI: 10.13463/j.cnki.cczyy.2020.04.021.
- 高远韧, 陈思佳, 侯英文, 等. TACE 联合射频消融术序贯槐耳颗粒治疗原发性肝癌 [J]. 长春中医药大学学报, 2020, 36(4): 684-687. DOI: 10.13463/j.cnki.cczyy.2020.04.021.
- [6] SIEGEL R, DESANTIS C, JEMAL A. Colorectal cancer statistics, 2014 [J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(2): 104-117. DOI: 10.3322/caac.21220.
- [7] TANG H, HE S, ZHANG X, et al. A network pharmacology approach to uncover the pharmacological mechanism of xuanhusuo powder on osteoarthritis [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2016, 2016: 3246946. DOI: 10.1155/2016/3246946.
- [8] HOPKINS AL. Network pharmacology [J]. Nat Biotechnol, 2007, 25(10): 1110-1111. DOI: 10.1038/nbt1007-1110.
- [9] FANG J, LIU C, WANG Q, et al. In silico polypharmacology of natural products [J]. Brief Bioinform, 2018, 19(6): 1153-1171. DOI: 10.1093/bib/bbx045.
- [10] Bureau of Medical Administration National Health Commission of the People's Republic of China. Guidelines for diagnosis and treatment of primary liver cancer in China (2019 edition) [J]. J Clin Hepatol, 2020, 36(2): 277-292. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2020.02.007.
- 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范 (2019 年版) [J]. 临床肝胆病杂志, 2020, 36(2): 277-292. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2020.02.007.
- [11] WU L, ZHANG Y, ZHU Y, et al. The effect of LOXL2 in hepatocellular carcinoma [J]. Mol Med Rep, 2016, 14(3): 1923-1932. DOI: 10.3892/mmr.2016.5474.
- [12] FANG ZQ, LI YJ, TANG CL, et al. Analysis on characteristics of syndrome in 2060 cases of primary hepatic cancer [J]. J Tradit Chin Med, 2004, 45(1): 53-54. DOI: 10.3321/j.issn:1001-1668.2004.01.031.
- 方肇勤, 李永健, 唐辰龙, 等. 2060 例原发性肝癌患者证候特点分析 [J]. 中医杂志, 2004, 45(1): 53-54. DOI: 10.3321/j.

- issn: 1001-1668. 2004. 01. 031.
- [13] SONG YY, JIANG J, LI AQ, et al. Literature analysis on TCM syndrome differentiation of advanced primary liver cancer [J]. Heilongjiang Tradit Chin Med, 2013, 42 (6): 2-3. DOI: CNKI: SUN: HLZY.0.2013-06-001.
- 宋央央, 姜冀, 酆安琪, 等. 中晚期原发性肝癌中医辨证分型的文献分析[J]. 黑龙江中医药, 2013, 42 (6): 2-3. DOI: CNKI: SUN: HLZY.0.2013-06-001.
- [14] CHENG YP, ZHANG MX. Research progress of traditional chinese medicine in treating primary liver cancer[J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2018, 20 (1): 167-169. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2018.01.047.
- 程玉佩, 张明香. 中医药治疗原发性肝癌研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20 (1): 167-169. DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2018.01.047.
- [15] WU S, CHEN TS, WU XX. Clinical thought on standardization of TCM syndrome types of primary liver cancer[J]. Clin research Tradit Chin Med, 2016, 8 (27): 134-135. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2016.27.065.
- 吴申, 陈挺松, 吴孝雄. 原发性肝癌中医证型规范化临床思路[J]. 中医临床研究, 2016, 8 (27): 134-135. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2016.27.065.
- [16] CARRASCO-POZO C, TAN KN, REYES-FARIAS M, et al. The deleterious effect of cholesterol and protection by quercetin on mitochondrial bioenergetics of pancreatic β -cells, glycemic control and inflammation: In vitro and in vivo studies [J]. Redox Biol, 2016, 9: 229-243. DOI: 10.1016/j.redox.2016.08.007.
- [17] YARAHMADI A, KHADEMI F, MOSTAFAVI-POUR Z, et al. In vitro analysis of glucose and quercetin effects on m-TOR and Nrf-2 expression in HepG2 cell line (diabetes and cancer connection)[J]. Nutr Cancer, 2018, 70 (5): 770-775. DOI: 10.1080/01635581.2018.1470654.
- [18] CHEN S, JIANG H, WU X, et al. Therapeutic effects of quercetin on inflammation, obesity, and type 2 diabetes[J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016: 9340637. DOI: 10.1155/2016/9340637.
- [19] JIANG X, YU J, WANG X, et al. Quercetin improves lipid metabolism via SCAP-SREBP2-LDLr signaling pathway in early stage diabetic nephropathy[J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2019, 12: 827-839. DOI: 10.2147/DMSO.S195456.
- [20] ZHOU M, LIAO XM, WANG S, et al. In vivo and in vitro anticancer activity of quercetin against human liver cancer HepG2 Cells[J]. Anhui Med J, 2019, 23 (11): 2136-2141. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.11.005.
- 周孟, 廖祥明, 王珊, 等. 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. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.11.005.
- [21] ZHANG Y, LYU HZ. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Psoralea corylifolia* [J/CD]. Elec J Clin Med Lit, 2020, 7 (30): 195. DOI: 10.16281/j.cnki.jocml.2020.30.181.
- 张莹, 吕惠子. 补骨脂的化学成分和药理作用研究进展[J]. 临床医药文献电子杂志, 2020, 7 (30): 195. DOI: 10.16281/j.cnki.jocml.2020.30.181.
- [22] NIE LJ, LI HM, GUO X, et al. Study on antioxidant and antitumor active ingredient from *Psoralea corylifolia* [J]. J Bengbu Med Coll, 2015, 40 (11): 1461-1464. DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.11.001.
- 聂丽娟, 李红梅, 郭星, 等. 补骨脂抗氧化及抗肿瘤活性成分的研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2015, 40 (11): 1461-1464. DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.11.001.
- [23] LI K, JI S, SONG W, et al. Glycybridins A-K, bioactive phenolic compounds from *glycyrrhiza glabra* [J]. J Nat Prod, 2017, 80 (2): 334-346. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b00783.
- [24] YANG J, ZHANG X, LIU L, et al. c-Src promotes the growth and tumorigenesis of hepatocellular carcinoma via the Hippo signaling pathway[J]. Life Sci, 2021, 264: 118711. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118711.
- [25] SHAO B, ZHAO X, LIU T, et al. LOXL2 promotes vasculogenic mimicry and tumour aggressiveness in hepatocellular carcinoma[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23 (2): 1363-1374. DOI: 10.1111/jcmm.14039.
- [26] SUN B, ZHANG D, ZHAO N, et al. Epithelial-to-endothelial transition and cancer stem cells: Two cornerstones of vasculogenic mimicry in malignant tumors[J]. Oncotarget, 2017, 8 (18): 30502-30510. DOI: 10.18632/oncotarget.8461.
- [27] LANG Q, LING C. MiR-124 suppresses cell proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting PIK3CA[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 426 (2): 247-252. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.08.075.
- 引证本文: CHENG QL, LIU L, BAI CC, et al. Mechanism of action of five classic prescriptions in treatment of hepatocellular carcinoma based on network pharmacology [J]. J Clin Hepatol, 2021, 37 (8): 1848-1855.
- 程秋骆, 刘柳, 白长川, 等. 基于网络药理学探析5种经典方剂治疗肝细胞癌的作用机制[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37 (8): 1848-1855.

(本文编辑:林 姣)