



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.02.06

文章编号: 2095-1264(2022)02-0173-10

基于网络药理学和分子对接研究广藿香治疗胃癌的作用机制^{*}

侯 坤, 王振飞^{*}

(内蒙古自治区肿瘤医院, 内蒙古 呼和浩特, 010020)

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接技术探讨广藿香治疗胃癌的活性成分及潜在的作用机制。**方法** 经TCMSP平台筛选和文献挖掘收集广藿香的主要活性成分,通过GeneCards数据库筛选出胃癌的靶点,利用R语言编程将化合物作用靶点与疾病靶点映射,构建化合物-靶点网络图。应用String数据库、R语言编程结合Cytoscape软件构建胃癌靶点蛋白相互作用网络并进行分析。应用Metascape网站进行基因本体论(GO)功能富集和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。应用DS软件对广藿香活性成分与胃癌靶点进行分子对接验证。**结果** 广藿香中含有7个主要活性成分,对应胃癌的143个靶点,主要通过AKT1、IL-6、EGFR、MMP9、VEGFA、CASP3、MARK1等关键靶点发挥疗效,主要作用途径为癌症途径、IL-17信号通路、铂耐药、NF- κ B信号通路、癌症中的转录失调、血管内皮生长因子信号通路等。至少有5个活性成分可与核心靶点AKT1相互作用,其中槲皮素7-O- β -D-葡萄糖苷与AKT1的结合最为稳定。**结论** 广藿香治疗胃癌具有多靶点和多通路的潜在作用机制。

关键词: 广藿香; 胃癌; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A

Mechanism of *Pogostemon cablin* in treatment of gastric cancer based on network pharmacology and molecular docking^{*}

HOU Kun, WANG Zhenfei^{*}

(Inner Mongolia Cancer Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, 010020, China)

Abstract: Objective To study the active components and potential mechanism of *Pogostemon cablin* in the treatment of gastric cancer based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** The main active components of *Pogostemon cablin* were collected through TCMSP platform screening and literature mining. The targets of gastric cancer were screened through GeneCards database. The active components were mapped to the disease targets by R programming language, and the interaction network of gastric cancer targeting proteins was constructed and analyzed by String database, R programming language and Cytoscape software. Gene ontology (GO) function enrichment and Kyoto Encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment were conducted on Metascape website. The molecular docking between the active components of *Pogostemon cablin* and gastric cancer targets was verified by DS software. **Results** There were 7 active components in *Pogostemon cablin*, corresponding to 143 targets of gastric cancer. They acted mainly through AKT1, IL-6, EGFR, MMP9, VEGFA, CASP3, MARK1 and other key targets, via pathways in cancer, IL-17 signaling pathway, platinum resistance, NF- κ B signaling pathway, transcription disorders in cancer, vascular endothelial growth factor signaling pathway, etc. At least five active components could be successfully docked with the core target AKT1, and the quercetin 7-O- β -D-glucoside could be bound to AKT1 the most stably. **Conclusion** *Pogostemon cablin* could inhibit the gastric cancer through

^{*}基金项目:国家自然科学基金面上项目(82074144);内蒙古医科大学青年创新基金(YKD2018QNCX062)。

作者简介:侯坤,女,硕士,副主任药师,研究方向:抗肿瘤临床药学。

^{*}通信作者:王振飞,博士,副研究员,研究方向:抗肿瘤药学。

multi-compound, multi-target, and multi-pathway.

Keywords: Gastric cancer; *Pogostemon cablin*; Network pharmacology; Molecular docking

前言

胃癌是我国发病率和致死率较高的实体肿瘤之一。国家癌症中心最新发布的中国癌症流行病学显示,胃癌在我国的发病率约为 29.31/10 万,高于世界人口标准化发病率 18.57/10 万;死亡率居第三位,约为 21.16/10 万,高于世界人口标准化发病率 12.92/10 万^[1]。因此,我国胃癌治疗形势仍然非常严峻。由于大多数患者确诊时已处于中晚期,失去了手术机会,因此药物治疗仍然是其主要的、不可替代的治疗手段。近年来,靶向治疗和免疫治疗药物等层出不穷,在胃癌治疗中取得了可喜的成果,但也由于其不良反应大、价格昂贵、可及性受限等问题,部分患者难以承受。相较于西药,中药资源丰富,在安全性和经济性方面具有独特的优势。近年来,有关利用中医药理论结合现代药物研究方法挖掘传统中药在胃癌治疗中的研究也正在不断开展。

广藿香是一味主要用于治疗胃肠道疾病的传统中药,主归脾胃经,具有改善胃肠道功能、抗菌、调节免疫、抗肿瘤等药理作用。广藿香独特的性味归经表明,其在胃肠道疾病方面具有独特的治疗优势。近几年已有广藿香抗肿瘤相关研究成果发表,但大多未能阐明其抗肿瘤作用机制和相关活性成分,且其在胃癌治疗中的作用更是鲜有报道。但根据中医药理论可推断,广藿香独特的性味归经可能在抑制胃癌恶性生物学行为方面具有潜在优势。因此,本文拟应用网络药理学方法筛选广藿香中具有抗胃癌作用的活性成分,探寻其潜在的抗胃癌作用靶点和信号通路,为课题组后续通过体内外实验挖掘广藿香在抗胃癌方面的药用价值提供参考。

1 资料与方法

1.1 广藿香活性成分筛选 在中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TC MSP)(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)检索广藿香的所有化学成分。为更好地筛选其中的有效化合物,以化合物的类药性(drug-likeness, DL)阈值 ≥ 0.18 和口服生物利用度(oral bioavailability, OB)阈

值 $\geq 30\%$ 为条件进行筛选,同时结合手动查阅文献及检索结果,确保最大程度纳入药物的活性成分。

1.2 广藿香活性成分的作用靶点筛选 在 TC MSP 数据库中查找并筛选与广藿香活性成分相对应的蛋白;在 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)中查询靶蛋白对应的人类基因名称,进行标准化处理并录入 Excel 表格。

1.3 疾病靶点筛选 以“gastric cancer”“gastric carcinoma”为关键词,检索人类孟德尔遗传数据库(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)(<https://omim.org>)与 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>),查找与胃癌相关的靶基因。合并两个数据库的搜索结果,去除重复和假阳性基因,以 scores >3 作为疾病靶点的筛选标准。

1.4 活性成分-疾病靶点相互作用网络构建 通过 UniProt 数据库查询广藿香活性成分相关靶点,然后生成并导出 R 语言可读的 txt 文件,将 1.3 项下获得的胃癌疾病靶点生成 txt 文件,将二者保存在同一个文件夹中。利用 R 语言(V4.0.3)将计算疾病和有效成分交集靶点并获得韦恩图的过程进行编程,运行后得到共同靶点和韦恩图,使用 Cytoscape 3.7.2 软件构建广藿香活性成分-疾病靶点相互作用网络图。

1.5 PPI 网络构建及核心靶点筛选 采用 String 数据库(<https://string-db.org/cgi/input.pl>)对 1.2 项下获得的药物-疾病靶点进行分析,设定种属为“homo sapiens”,最小互作分数值 ≥ 0.7 ,不显示在网络中未连接的节点,得到蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络图并输出药物-疾病靶点蛋白相互作用结果。通过 R 语言(V4.0.3)编程运行后,筛选核心靶点,绘制核心靶点条形图,为分子对接验证提供基础。

1.6 GO 富集和 KEGG 通路富集 将 PPI 网络中的靶蛋白投射到 Metascape(<http://metascape.org/gp/index.html>)在线数据库进行基因本体论(gene ontology, GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。相较于 DAVID 数据库,Metascape 数据库的更新速度更快。将 P 值由小到大进行排序,从生物过程及信号通路角度分析具体作用机

制。 $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

1.7 “成分-靶点-通路”网络图绘制 综合 GO 生物过程和 KEGG 通路富集分析结果,筛选出可能具有抑制胃癌作用的信号通路,并与广藿香的活性成分和潜在靶点对应,生成 Excel 文件,利用 Cytoscape 3.7.2 软件绘制“成分-靶点-通路”网络图。然后登录 KEGG 官网 (<https://www.kegg.jp/>),将 KEGG 通路富集后排名第一的通路中的靶蛋白绘制成信号图谱。

1.8 分子对接验证 基于上述结果,选择 PPI 网络中“Degree”值最大的靶点对应的蛋白作为受体,逐一与广藿香活性成分进行分子对接和构象评分。对接方法如下:在蛋白质数据库(Protein Data Bank, PDB) (<https://www.rcsb.org/>)下载受体的人源性蛋白结构,以广藿香活性成分作为配体,各活性成分的 3D 结构可在筛选化合物数据库 ZINC (<https://zinc.docking.org/>)上查找和下载,如未查到,可先利用 ChemDraw 软件绘制其平面结构,再依次导入 Chem3D 软件生成 3D 结构;将受体的 3D 结构和广藿香活性成分的 3D 结构逐一导入 Discovery Studio (DS)软件,进行分子结构常规预处理;以 LibDock 模式对接,参数为默认,逐一对受体和各个配体的对接结果进行评分,得出 LibDock score,根据 LibDock score 排序,选择评分最高的分子绘制分子对接示意图,并探讨对接机制。

2 结果

2.1 活性成分筛选 广藿香中有 12 个活性成分满足 DL、OB 的要求,通过分析相关文献并结合现代药理学研究结果,最终获得广藿香活性成分共 12 个(表 1)。

表 1 12 个广藿香活性成分的基本信息

Tab. 1 Basic information of 12 compounds in *Pogostemon cablin*

Mol ID	英文名称	中文名称	DL	OB/%
MOL000695	patchouli alcohol	广藿香醇	0.18	101.96
MOL002879	diisooctyl phthalate	邻苯二甲酸二异辛酯	0.39	43.59
MOL005573	genkwanin	芫花素	0.24	37.13
MOL005884	patchoulan 1,12-diol	广藿香 1,12-二醇	0.25	38.17
MOL005890	pachypodol	藿香黄酮醇	0.40	75.06
MOL005911	5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavanone	5-羟基-7,4'-二甲氧基黄烷酮	0.27	51.54
MOL005916	irisolidone	鸢尾酮	0.30	37.78
MOL005918	phenanthrone	菲酮	0.33	38.70
MOL005921	quercetin 7-O- β -D-glucoside	槲皮素 7-O- β -D-葡萄糖苷	0.27	49.57
MOL005922	acanthoside B	棘皮苷 B	0.77	43.35
MOL005923	3,23-dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid	3,23-二羟基-12-油酸-28-油酸	0.86	30.86
MOL000098	quercetin	槲皮素	0.28	46.43

2.2 靶点预测 在 TCMSP 数据库检索广藿香活性成分所对应的蛋白靶点,再利用 UniProt 数据库检索与之对应的人类基因名称,最终得到 152 个靶基因。GeneCards 数据库检索与胃癌相关的靶点,排除重复结果后共得到 12 305 个靶点。通过 R 语言 (V4.0.3)将广藿香活性成分相关靶点映射至胃癌靶点,获得共同有效靶点 143 个(图 1),可视为广藿香治疗胃癌有效活性成分的潜在作用靶点;获得抗胃癌活性成分 7 个,分别为鸢尾酮(irisolidone)、5-羟基-7,4'-二甲氧基黄烷酮(5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavanone)、芫花素(genkwanin)、菲酮(phenanthrone)、槲皮素 7-O- β -D-葡萄糖苷(quercetin 7-

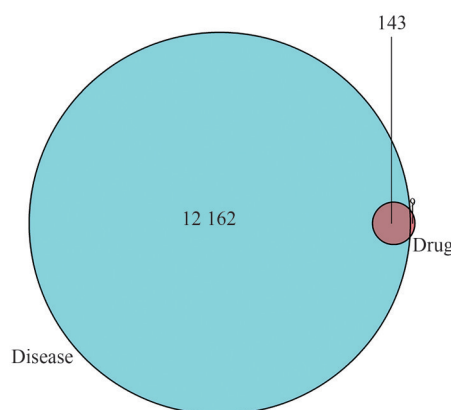


图 1 广藿香活性成分对应胃癌靶点的韦恩图

Fig. 1 Venn analysis of gastric cancer targets and *Pogostemon cablin* targets

O- β -D-glucoside)、广藿香醇(patchouli alcohol)、槲皮素(quercetin)。

2.3 PPI 网络图构建 将广藿香的活性成分及其作用靶点信息、143 个胃癌靶点信息导入 Cytoscape 3.7.2 软件,构建广藿香活性成分-疾病靶点相互作用网络图(图 2),共有 7 种活性成分作用于 143 个靶点(靶基因),通过 183 条边发挥相互作用。将 143 个作

用靶点导入 String 数据库构建 PPI 网络,应用 R 语言(V4.0.3)筛选核心基因,按邻接节点数量由多到少绘制条形图(图 3)。邻接节点数量与成为核心基因的概率相关,其数量越多,则成为核心靶点的概率越大。其中,AKT1、IL-6、EGFR、MMP9、VEGFA、ASP3、MARK1 等与胃癌的发生关系密切。

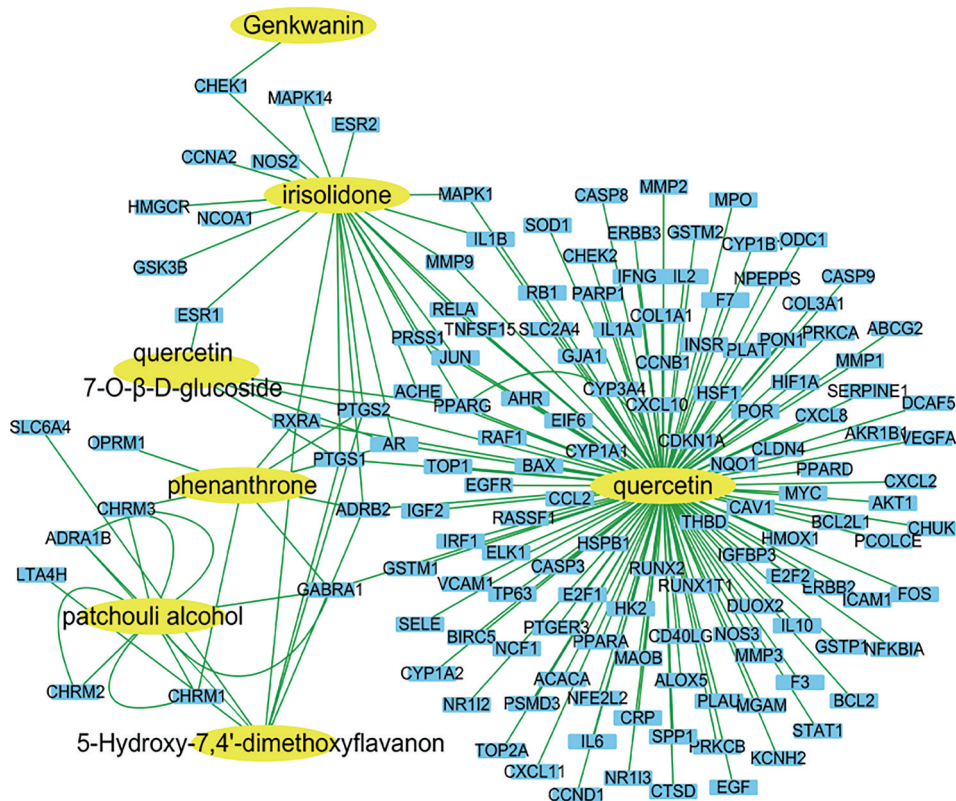


图 2 广藿香治疗胃癌的活性成分-靶点网络图

Fig. 2 The compound-target network of *Pogostemon cablin* against gastric cancer

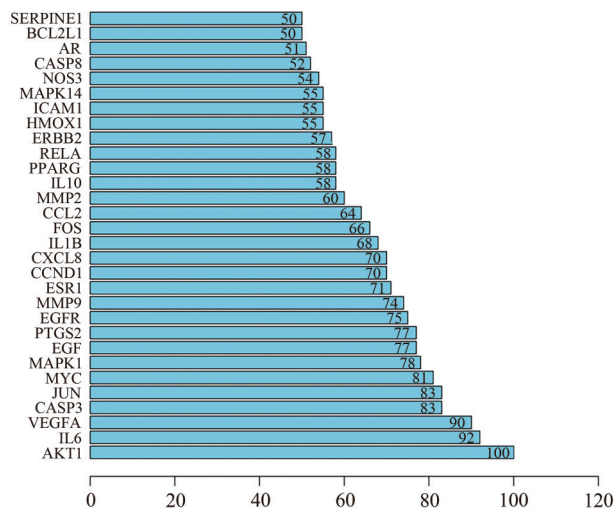


图 3 核心靶点条形图

Fig. 3 Bar chart of core targets

2.4 KEGG 和 GO 分析 将 143 个靶点输入 Metascape 进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 富集分析互作靶点与 1 922 个生物过程相关,与 82 个细胞成分相关,与 153 个分子功能相关。以排名前 10 位的 GO 条目绘制条形图,深蓝色条形图代表的生物过程主要富集在对伤害的反应、对有毒物质的反应、对无机物的反应、凋亡信号通路、细胞对激素刺激的反应、对脂多糖的反应、血管发育、细胞增殖的负调控、活性氧代谢过程、对氧气水平的反应等;浅蓝色条形图代表的细胞组分主要富集在细胞质核周区、胞外基质、质膜蛋白复合物、树突、囊腔、液泡、转录因子复合物、核被膜、胞质泡膜等;橙色条形图代表的分子功能主要富集在转录因子结合、蛋白激酶结合、蛋白质结构域特异性结合、蛋白质同

源二聚活性、氧化还原酶活性、细胞因子受体结合、泛素样蛋白连接酶结合、激酶调节活性、蛋白质异

二聚活性、核受体活性等(图4)。

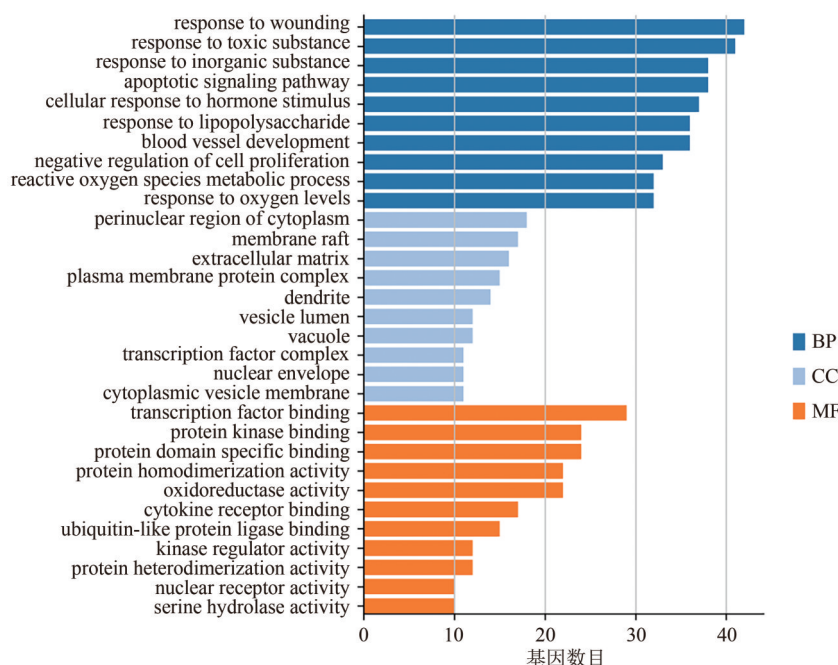


图4 GO 富集分析图

Fig. 4 GO enrichment analysis

KEGG 富集分析得到 32 条信号通路, 排名前 20 位的通路包括癌症途径(pathway in cancer)、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、乙型肝炎、IL-17 信号通路、细胞衰老、松弛素信号通路、铂耐药、NF- κ B 信号通路、非酒精性脂肪肝、癌症中的转录失调、阿米巴病、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)信号通路、类风湿性关节炎、疟疾、钙信号通路、胰岛素抵抗、5-羟色胺能突触、甲状腺癌、胰岛素信号通路、化学致癌(图5)。GO 和 KEGG 富集结果提示, 广藿香活性成分的潜在靶点可作用于不同的代谢通路, 并协同抑制胃癌的发生、发展, 符合中药作用的“多成分、多靶点”特性。

2.5 “活性成分-靶点-通路”网络分析 综合 GO 生物过程和 KEGG 通路富集分析结果, 筛选出 6 个可能与胃癌发生、发展相关的信号通路, 即癌症途径、IL-17 信号通路、铂耐药、NF- κ B 信号通路、癌症中的转录失调、VEGF 信号通路、化学致癌。按照 1.7 项下的方法绘制“活性成分-靶点-通路”网络图, 外圈排列为圆形的椭圆形节点表示 Degree 值 < 5 的靶点, 排列为正方形的椭圆形节点表示 Degree 值 > 5 的靶点, 绿色长方形节点表示信号通路, 黄色菱

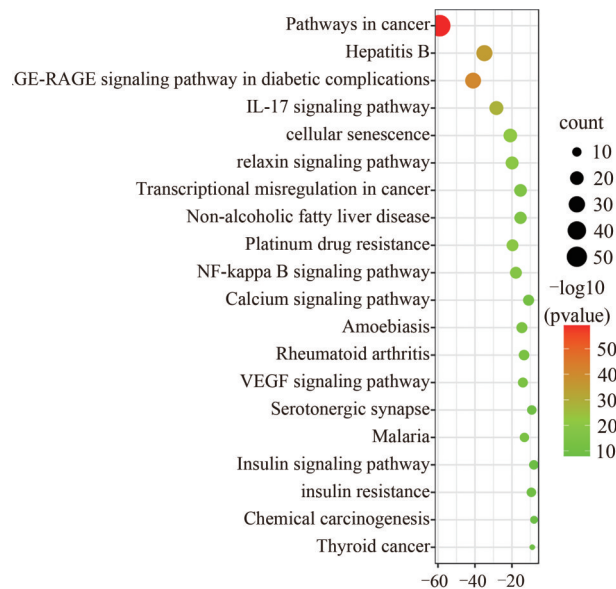


图5 KEGG 富集分析气泡图

Fig. 5 Bubble chart of KEGG enrichment for common target proteins

形节点表示活性成分(图6)。该网络包含 7 种活性成分、143 个作用靶点及 7 个重要信号通路, 抗胃癌活性成分主要有鸢尾酮、5-羟基-7,4'-二甲氧基黄酮、芫花素、菲酮、槲皮素 7-O- β -D-葡萄糖苷、广藿香醇、槲皮素, 表明广藿香可通过多成分、多靶

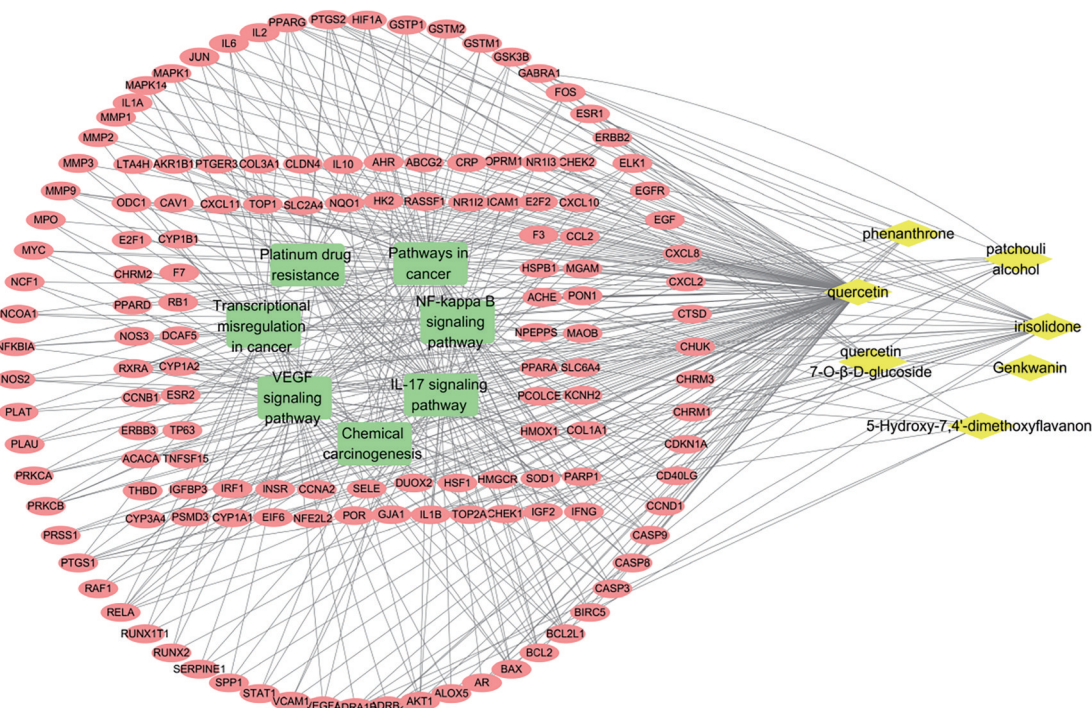


图 6 广藿香“活性成分-靶点-通路”图
 Fig. 6 Network of “active compound-target-pathway”

点、多通路抑制胃癌的发生、发展。将KEGG富集通路中 P 值最小的通路——癌症途径中的蛋白靶点映射到KEGG官网的信号图谱上,最终得癌症途径的具体信号通路图,其中红色方框代表富集于该通路且在胃癌发生、发展过程中具有上调作用的靶点,也是广藿香的潜在作用靶点(图7)。

2.6 分子对接验证 在PPI网络中, Degree值最高的节点被认为是所有节点的“中枢节点”,在靶点相互作用中占据重要地位,故选择AKT1作为受体。在PDB数据库检索到AKT1蛋白的人源性结构ID为3O96,下载其结构并上传至DS软件,逐一与7个广藿香活性成分进行Libdock对接和评分(表2),其中对接评分最高的是槲皮素7-O- β -D-葡萄糖苷与AKT1的结合构象。槲皮素7-O- β -D-葡萄糖苷(图8A)能稳定对接到AKT1蛋白结构3O96(图8B)的活性口袋中(图8C),其与AKT1的结合模式以氢键和疏水作用为主,可形成较稳定的构象,此外还有静电作用。槲皮素7-O- β -D-葡萄糖苷可与AKT1在THR211: HN、THR29k1: O、GLN79: OE1、LEU210: HA、TYR272: O、VAL271: HA、VAL271: O、TYR272: O处发生氢键键合,在ASP292: OD2处发生 π -阴离子静电作用,在TRP80处发生 π - π 疏水作用,在GLN79: C、O, TRP80: N处发生 π -酰胺疏水作用,在LEU264、VAL270、LEU210处发生 π -烷基

疏水作用。

3 讨论

中药广藿香为唇形科刺蕊草属植物广藿香 [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] 的干燥地上部分,是临床常用的芳香化湿类传统中药,味辛,性微温,归脾、胃、肺经,具有芳香化浊、和中止呕、发表解暑的作用,主治湿浊中阻、脘痞呕吐、暑湿表证、湿温初起、发热倦怠、胸闷不舒、寒湿闭暑、腹痛吐泻、鼻渊头痛等。广藿香中的主要成分是挥发油,此外,还含有黄酮类和微量元素等,挥发油多为小分子萜类化合物,如广藿香醇、广藿香酮等,香味浓烈,具有良好的药理作用。临床用于治疗消化不良、腹胀腹满等症状时常与其他化湿醒脾药物如山楂、神曲等配伍使用,治疗胃肠型感冒时常使用其中成药藿香正气水。现代药理学研究证明,广藿香具有多种药理作用,包括调节胃肠道功能、缓解胃肠道痉挛、抗菌、抗病毒、抗炎、解热、镇痛、止吐、止咳化痰、抗肿瘤和调节免疫功能等。体外研究发现,广藿香水提取物及挥发油提取物对子宫内膜癌 Ishikawa 细胞、雄激素非依赖性前列腺癌细胞 DU145、结肠癌细胞 HCT116 和 SW480、人髓性单核细胞白血病细胞 MV4-11 具有不同程度的抑制作用^[2-5]。最近的研究结果还显示,广藿香水提取物可

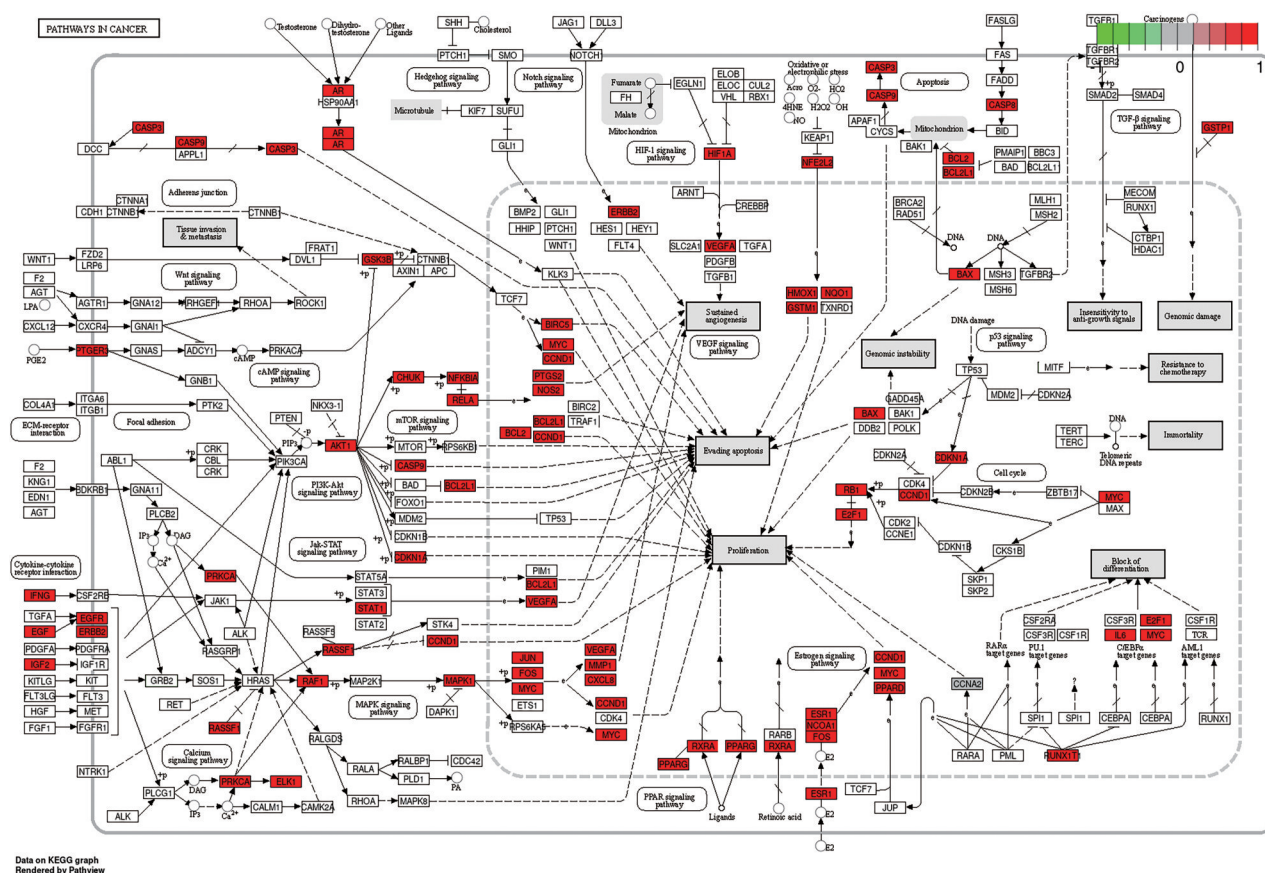


图 7 癌症途径的信号通路图

Fig. 7 Signal diagram of pathway in cancer

表 2 广藿香主要活性成分与 AKT1 的对接评分

Tab. 2 The LibDock scores between active compounds and AKT1

序号	活性成分	LibDock 分数
1	槲皮素 7-O-β-D-葡萄糖苷	147.572
2	槲皮素	119.911
3	茺花素	118.589
4	鸢尾酮	109.014
5	广藿香醇	103.271
6	菲酮	99.474
7	5-羟基-7,4'-二甲氧基黄烷酮	92.539

以克服子宫内膜癌细胞对紫杉醇的耐药性,抑制肿瘤细胞生长^[6]。这些研究为广藿香治疗胃癌提供了一定的参考价值。

本研究通过 KEGG 富集分析发现,广藿香可通过多种信号通路抑制胃癌的恶性生物学行为,其中排名第一的为癌症途径。广藿香可通过作用于 RAS-ERK、PI3K-AKT、Wnt、NOTH、JAK-STAT signaling、HIF-1 signaling、Cell cycle G₁/S、Apoptosis、

Telomerase activity 等多种信号通路上的靶蛋白,对胃癌的恶性行为起到抑制作用,其中部分蛋白靶点已通过体外研究初步得到证实。例如作为癌症信号传导通路之一的 JAK/STAT 信号通路,可参与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡等重要生物学过程^[7-8],其过度激活在胃炎到胃癌的演变过程中发挥了非常重要的作用^[9-10]。JAK/STAT 信号通路被激活后,可向细胞核传递信号,导致核内凋亡抑制基因 Bcl-2 等的异常激活,从而抑制肿瘤细胞凋亡^[11]。JAK/STAT 信号通路还可通过触发 NF-κB 激活直接或间接促进肿瘤的恶性生物学行为^[12]。此外,c-Myc 蛋白的表达水平与胃癌的恶性程度、浸润和转移能力呈正相关^[13]。JAK/STAT 被激活后还可干扰以 c-Myc 为首的基因表达,使相关蛋白表达上调、细胞正常代谢功能失常,从而促进胃炎向胃癌的转变^[14]。PI3K/AKT 信号通路与肿瘤细胞增殖有着密切的关系^[15-18]。PI3K 与 EGFR 结合可活化 AKT,进而激活或抑制下游一系列底物的活性,如凋亡相关蛋白 Bad、Caspase-9 等,从而调节细胞的增殖、分

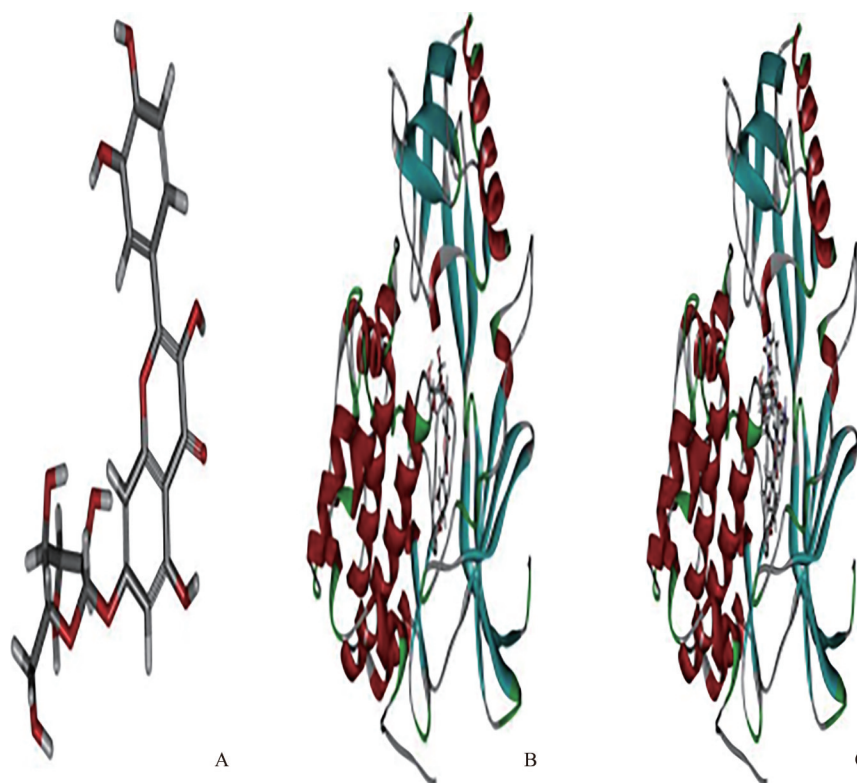


图 8 槲皮素 7-O-β-D-葡萄糖苷与 AKT1 的对接示意图

Fig. 8 Molecular docking diagram of interaction between quercetin 7-O-β-D-glucoside and AKT1

化、凋亡、迁移等表型。另外,活化的 AKT 也可激活 IKK,导致 NF-κB 磷酸化,使得 NF-κB 移至细胞核内。体外研究发现,广藿香中的挥发油广藿香醇可通过上调 Caspase-3 和 Bax 的表达、下调凋亡抑制蛋白 Livin 和 Bcl-2 的表达,诱导雄激素非依赖性前列腺癌细胞 DU145 凋亡;并通过下调 c-Myc 和转录因子 NF-κB 通路抑制结肠癌细胞 HCT116 和 SW480 的分化并促进其凋亡^[4];还可通过抑制细胞内核转录因子 NF-κB 的活性诱导人髓性单核细胞白血病细胞 MV4-11 凋亡^[5]。Bcl-2、c-Myc 是 JAK/STAT 信号通路激活后在细胞核内被异常激活的下游蛋白,而 NF-κB 是 PI3K/AKT 通路中被激活的下游蛋白,结合网络药理学分析结果推测,广藿香通过 JAK/STAT、PI3K/AKT 通路对胃癌起到抑制作用的可能性较大,但必须经过规范、严格的体内外实验,并对激活各条通路的上游蛋白和被激活的下游蛋白以及细胞核内的情况进行细致的研究,来验证广藿香在抗胃癌作用机制方面的猜想。也有体内实验观察到,广藿香叶挥发油可增加小鼠外周白细胞、腹腔巨噬细胞和脾淋巴细胞的数量和活性,进而起到一定的免疫调节作用^[19]。此外,有研究发现,广藿香醇可能通过激活单核吞噬系统,增强体

液免疫应答发挥作用,从而抑制细胞免疫应答^[20]。结合本研究总结的广藿香可能的作用靶点,我们推测,广藿香可能通过免疫调节途径对胃癌细胞起到抑制作用,但需要在后续实验中进一步验证。

本研究蛋白互作结果显示,AKT1 是与胃癌发生关系最为密切,也是广藿香可能作用的核心靶点,这与既往研究发现 AKT 信号通路参与了胃癌细胞增殖和药物敏感性调控的结果相一致。AKT1 是 AKT 的同源异构体,主要调节肿瘤细胞增殖和凋亡^[21-22]。有研究发现,抑制 AKT 表达能逆转胃癌细胞的恶性行为^[22-24],胃癌组织中 AKT1 阳性表达率为 61.9%,显著高于癌旁组织,AKT1 阳性表达率与 TNM 分期有关,提示 AKT1 可能主要参与胃癌的发生、发展^[25]。分子对接验证得到槲皮素 7-O-β-D-葡萄糖苷、槲皮素、羌花素、鸢尾酮、广藿香醇共 5 种与关键蛋白 AKT1 的对接评分>100 分的活性成分。一般认为对接评分>100 分即表示化学成分具有活性。因此,除了具有较好抗肿瘤药理活性的黄酮类成分——槲皮素 7-O-β-D-葡萄糖苷和槲皮素外,作为广藿香主要成分之一的广藿香醇,也值得给予更多关注。并且已有研究发现,广藿香醇有抗肿瘤作用。结合既往文献研究成果和本研究结果,本课

课题组后续研究选择了不同浓度(0.025、0.05、0.1、0.2、0.5 mmol·L⁻¹)的广藿香醇处理胃癌细胞 BGC-823 和 SGC-7901,进行增殖、迁移实验,初步发现不同浓度广藿香醇对 BGC-823 和 SGC-7901 细胞的恶性行为均有不同程度的抑制作用,并随浓度的增加而增强,后续研究也将进一步探索广藿香醇在胃癌中的作用途径。AKT1 是与胃癌发生关系最为密切,也是广藿香可能作用的核心靶点,PI3K/AKT 不仅是胃癌细胞增殖的主要通路,且该通路被激活后,活化的 AKT 也可激活 IKK,导致 NF- κ B 磷酸化并转移至细胞核内,进而上调 PD-L1 表达。已有广藿香的细胞实验初步证实,广藿香醇可通过抑制细胞内核转录因子 NF- κ B 的活性诱导人髓性单核细胞白血病细胞 MV4-11 凋亡^[5]。因此,本课题组拟在后续实验中通过探索广藿香醇是否可通过下调胃癌细胞中 PD-L1 的表达抑制其恶性行为的发生,以及是否可通过抑制 NF- κ B 磷酸化下调 PD-L1 表达,并进一步明确 NF- κ B 上游的 PI3K/AKT 是否参与了 PD-L1 的表达下调,来逐步阐明广藿香醇对胃癌的作用机制。

此外,EB 病毒(Epstein-Bare virus, EBV)和幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, HP)的感染也是诱发胃癌的高危因素。EBV 感染机体后可表达 LMP2A 蛋白,该蛋白在 EBV 相关胃癌的发生发展中起着重要作用,可通过激活 NF- κ B 介导炎症反应,还能进一步上调凋亡抑制基因 Survivin 的表达,进而介导抗凋亡分子信号^[26]。EBV 可诱导信号转导及转录激活因子-3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)磷酸化,进而激活 DNA 甲基转移酶 1 转录,并通过第 10 号染色体同源缺失磷酸酶-张力蛋白基因(phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten, PTEN)启动子的 CpG 岛甲基化导致抑癌基因 PTEN 表达下调^[27]。本研究结果显示,广藿香可能通过 JAK/STAT、PI3K/AKT 通路对胃癌起到抑制作用,推断广藿香在阻断 EBV 感染相关胃癌方面也有潜在的可能。HP 感染诱发慢性胃炎已成为广泛的共识。HP 在胃黏膜上皮细胞表面和胃黏液底层定植,可致使胃黏膜细胞变性、坏死、炎症细胞浸润,导致急性胃黏膜炎症,并发展为慢性胃炎,进一步发展可导致淋巴细胞浸润、胃黏膜萎缩、肠上皮化生,终致腺癌形成。因此,胃感染 HP 后,炎症反应通路在慢性胃炎到胃癌的演变过程中起到了非常重要的作用。本研究结果发现,

广藿香可通过 NF- κ B 通路起到抑制胃癌细胞恶性行为的作用,据此推测,广藿香也可能通过抑制炎症反应阻止 HP 对胃黏膜细胞的破坏,从而减少癌变的可能。

综上所述,本研究以网络药理学为基础结合分子对接技术,对广藿香治疗胃癌的活性成分和分子靶点进行了较为系统的总结,为广藿香治疗胃癌的研究提供了参考。广藿香可通过多种信号通路上的靶点抑制胃癌细胞的恶性行为,不仅具有巨大的抗肿瘤潜力,还具有经济优势,今后需进一步结合细化的体内外研究来发掘其在胃癌预防和治疗中的价值。

参考文献

- [1] 曹毛毛,李贺,孙殿钦,等. 2000—2019 年中国胃癌流行病学趋势分析[J]. 中华消化外科杂志, 2021, 20(1): 102-109. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20201130-00746.
- [2] TSAI C C, CHANG Y H, CHANG C C, et al. Induction of apoptosis in endometrial cancer (ishikawa) cells by *Pogostemon cablin* aqueous extract (PCAE) [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(6): 12424-12435. DOI: 10.3390/ijms160612424.
- [3] 蔡剑,彭成,朱晓燕,等. 广藿香醇对人雄激素非依赖性前列腺癌细胞 DU145 生长的抑制作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10): 165-169. DOI: 10.13422/j.cnki.sy-fjx.2014100165.
- [4] JEONG J B, CHOI J, LOU Z Y, et al. Patchouli alcohol, an essential oil of *Pogostemon cablin*, exhibits anti-tumorigenic activity in human colorectal cancer cells [J]. Int Immunopharmacol, 2013, 16(2): 184-190. DOI: 10.1016/j.intimp.2013.04.006.
- [5] 杨雨婷,何贝轩,何育霖,等. 广藿香醇通过 PKM2 和 NF- κ B 诱导 MV4-11 细胞凋亡相关机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(6): 99-103. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.2016060099.
- [6] 孙华威,梅梅,陈颖,等. 广藿香提取物对子宫内腺癌细胞相关耐药基因表达及紫杉醇耐药性的影响[J]. 广西医学, 2018, 40(16): 1840-1843. DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2018.16.19.
- [7] LUO Y L, YANG Z, SU L, et al. Non-CSCs nourish CSCs through interleukin-17E-mediated activation of NF- κ B and JAK/STAT3 signaling in human hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Lett, 2016, 375(2): 390-399. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.03.012.
- [8] TRIVEDI S, STARZ-GAIANO M. *Drosophila* Jak/STAT signaling: regulation and relevance in human cancer and metastasis [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12): 4056. DOI: 10.3390/ijms19124056.
- [9] OWEN K L, BROCKWELL N K, PARKER B S. JAK-STAT signaling: a double-edged sword of immune regulation and cancer progression [J]. Cancers, 2019, 11(12): 2002. DOI: 10.3390/cancers11122002.
- [10] 王坤. 穴位埋线对慢性萎缩性胃炎大鼠 JAK/STAT 转导系统的影响[D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- [11] SAUNDERS I T, MIR H, KAPUR N, et al. Emodin inhibits colon cancer by altering BCL-2 family proteins and cell survival pathways [J]. Cancer Cell Int, 2019, 19: 98. DOI: 10.1186/

- s12935-019-0820-3.
- [12] BOSE S, BANERJEE S, MONDAL A, et al. Targeting the JAK/STAT signaling pathway using phytochemicals for cancer prevention and therapy [J]. *Cells*, 2020, 9(6): 1451. DOI: 10.3390/cells9061451.
 - [13] 张英, 方向明, 何小谷, 等. eIF4E、C-myc 及 CDK4 在胃癌及胃癌前情况中的表达及意义[J]. *临床消化病杂志*, 2020, 32(2): 102-107. DOI: 10.3870/lcxh.j.issn.1005-541X.2020.02.08.
 - [14] BA M C, LONG H, YAN Z F, et al. BRD4 promotes gastric cancer progression through the transcriptional and epigenetic regulation of c-MYC [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(1): 973-982. DOI: 10.1002/jcb.26264.
 - [15] WANG Q, YAN S P, CHU D X, et al. Silencing of long non-coding RNA RP1-93H18.6 acts as a tumor suppressor in cervical cancer through the blockade of the PI3K/Akt axis [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19: 304-317. DOI: 10.1016/j.omtn.2019.10.041.
 - [16] JIANG N N, DAI Q J, SU X R, et al. Role of PI3K/AKT pathway in cancer: the framework of malignant behavior [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(6): 4587-4629. DOI: 10.1007/s11033-020-05435-1.
 - [17] SHORNING B Y, DASS M S, SMALLEY M J, et al. The PI3K-AKT-mTOR pathway and prostate cancer: at the crossroads of AR, MAPK, and WNT signaling [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4507. DOI: 10.3390/ijms21124507.
 - [18] YANG J, NIE J, MA X L, et al. Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 26. DOI: 10.1186/s12943-019-0954-x.
 - [19] 齐珊珊, 胡丽萍, 陈文娜, 等. 广藿香叶挥发油对小鼠免疫调节作用的实验研究[J]. *中华中医药学刊*, 2009, 27(4): 774-776. DOI: 10.13193/j.archtem.2009.04.103.qishsh.050.
 - [20] LIAO J B, WU D W, PENG S Z, et al. Immunomodulatory potential of patchouli alcohol isolated from *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth (Lamiaceae) in mice [J]. *Trop J Pharm Res*, 2013, 12(4): 559-565. DOI: 10.4314/tjpr.v12i4.18.
 - [21] SHARIATI M, MERIC-BERNSTAM F. Targeting AKT for cancer therapy [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2019, 28(11): 977-988. DOI: 10.1080/13543784.2019.1676726.
 - [22] HINZ N, JÜCKER M. Distinct functions of AKT isoforms in breast cancer: a comprehensive review [J]. *Cell Commun Signal*, 2019, 17(1): 154. DOI: 10.1186/s12964-019-0450-3.
 - [23] ZHENG C H, WANG J B, LIN M Q, et al. CDK5RAP3 suppresses Wnt/ β -catenin signaling by inhibiting AKT phosphorylation in gastric cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 59. DOI: 10.1186/s13046-018-0716-4.
 - [24] LIN J X, XIE X S, WENG X F, et al. UFM1 suppresses invasive activities of gastric cancer cells by attenuating the expression of PDK1 through PI3K/AKT signaling [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 410. DOI: 10.1186/s13046-019-1416-4.
 - [25] 马子涵, 贾西云, 徐倩, 等. 胃癌组织中 AKT1 与 STMN1 表达的关系及其临床意义[J]. *肿瘤基础与临床*, 2019, 32(6): 471-474. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5412.2019.06.003.
 - [26] YAU T O, TANG C M, YU J. Epigenetic dysregulation in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: disease and treatments [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(21): 6448-6456. DOI: 10.3748/wjg.v20.i21.6448.
 - [27] ONOZAWA E, SHIBAYAMA H, TAKADA H, et al. STAT3 is constitutively activated in chronic active Epstein-Barr virus infection and can be a therapeutic target [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(57): 31077-31089. DOI: 10.18632/oncotarget.25780.

收稿日期:2021-03-12 校稿:李征 王娟

本文引用格式: 侯坤, 王振飞. 基于网络药理学和分子对接研究广藿香治疗胃癌的作用机制[J]. *肿瘤药 学*, 2022, 12(2): 173-182. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.02.06.

Cite this article as: HOU Kun, WANG ZhenFei. Mechanism of *Pogostemon cablin* in treatment of gastric cancer based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2022, 12(2): 173-182. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.02.06.