

基于网络药理学探讨冬虫夏草治疗结肠癌的作用机制

Mechanism of cordyceps sinensis on colon cancer based on network pharmacology

吴欢 郝月姣 卢汪钰 邵静*

(河南中医药大学, 河南 郑州, 450000)

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 1674-7860 (2021) 29-0016-06

【摘要】目的: 探讨冬虫夏草治疗结肠癌的潜在作用机制。方法: 采用网络药理学方法, 通过中药药理数据库和分析平台数据库筛选出冬虫夏草活性成分及作用靶点, Swiss 数据库补充其相关活性成分靶点, UniProt 数据库将其相关靶点蛋白标准化, 在 GeneCards、OMIM 数据库中筛选结肠癌相关靶点, 通过 Venny 数据库获取两者交集作用靶点, 利用 Cytoscape 3.6.0 软件构建“药物-成分-靶点-疾病”网络图, 运用 String 数据库构建蛋白质相互作用网络, 运用 DAVID 数据库进行基因本体 (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, 并通过 Omishare 数据库将其 KEGG 通路富集分析结果可视化, 最后采用 Cytoscape 3.6.0 软件构建“冬虫夏草成分-靶点-通路”网络图。结果: 冬虫夏草治疗结肠癌的主要活性成分为花生四烯酸 (arachidonic acid)、 β -谷甾醇 (beta-sitosterol)、过氧化麦角固醇 (Peroxyergosterol)、啤酒甾醇 (cerevisterol) 等, 涉及到磷脂酰肌醇-3 激酶催化亚基 β (PIK3CB)、磷脂酰肌醇-3-激酶催化亚基 α (PIK3CA)、促分裂原活化蛋白激酶 8 (Mitogen-Activated Protein Kinase 8, MAPK8) 等关键作用靶点, 参与癌症通路 (Pathways In Cancer)、PI3K-Akt 信号通路 (PI3K-Akt Signaling Pathway)、细胞凋亡 (Apoptosis) 等主要信号通路。结论: 初步探讨冬虫夏草治疗结肠癌可能存在的的作用机制, 证实了冬虫夏草是从多成分、多靶点、多通路来治疗结肠癌, 并为实验验证及临床研究进一步提供依据。

【关键词】冬虫夏草; 结肠癌; 网络药理学

【Abstract】Objective: To explore the potential mechanism of cordyceps sinensis in treating colon cancer. Methods: Using the network pharmacology method, firstly, the active ingredients and targets of cordyceps sinensis were screened through the TCMSp database. secondly, the Swiss database supplemented the related active ingredients'targets. Thirdly, the UniProt database standardized the related target proteins. Fourthly, screening colon cancer's related targets in GeneCards and OMIM database, and obtaining the target of intersection between the two through the Venny database, use Cytoscape 3.6.0 software to build a "drug-component-target-disease" network map, use the String database to build a protein interaction network, use the DAVID database for GO enrichment analysis and KEGG path enrichment analysis, and visualize the results of its KEGG pathway enrichment analysis through the Omishare database. Finally, Cytoscape 3.6.0 software was used to construct the "cordyceps sinensis composition-target-pathway" network diagram. Results: The main active components of cordyceps sinensis in treating colon cancer were arachidonic acid, Peroxyer gosterot, betaoxysterol, cerevisterol, etc., involved PIK3CB, PIK3CA, MAPK8 and other key targets, and participated the major signaling pathways such as pathways in cancer, PI3K-Akt signaling pathway, apoptosis, and so on. Conclusion: Preliminary studied on the possible mechanism of cordyceps sinensis in treating colon cancer, confirmed that cordyceps sinensis treated colon cancer from multiple components, multiple targets, and multiple pathways, and provided a basis for experimental verification and clinical research.

【Keywords】 Cordyceps sinensis; Colon cancer; Network pharmacology

doi:10.3969/j.issn.1674-7860.2021.29.004

结肠直肠癌是男性第三大常见恶性肿瘤, 女性第二大恶性肿瘤, 也是全球第四大最常见的恶性肿瘤死亡原因。在有症状的患者中, 60% ~ 70% 的确诊病例是在疾病的晚期被发现的^[1]。目前, 结肠镜检查检测仍然是疾病诊断的金标准^[2], 该病的治疗多采用手术、放化疗等疗法, 但其不良反应相对较多。而中医药治疗该疾病具有多成分、多靶点、多通路的特性, 具有诱导结肠癌细胞凋亡、抑制诱发结肠癌基因的表达、抑制转移瘤生长、改善患者机体免疫功能及术后不良反应等功效^[3]。基于此, 进一步深入研究中医药治疗该类疾病的潜在价值具有十分积极的意义。

冬虫夏草为麦角菌科真菌冬虫夏草菌寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的干燥复合体, 具有补肾益肺、止血化痰之功效^[4], 冬虫夏草中含有多种有效成分, 包括甾醇、核苷、脂肪酸、蛋白质、多肽及多糖等^[5-7], 现代药理学研究表明, 该药对多种肿瘤细胞具有抑制作用且效果明显^[8], 近年来已开始作为免疫辅助疗法在临床上用于治疗肿瘤, 研究发现该药可作为生物反应调节剂, 单用或联合应用可抑制肿瘤或降低化疗的免疫抑制不良反应, 并协同化疗药物杀伤肿瘤细胞^[9], 还可增强机体对药物的耐受性, 提升机体白细胞及血小板, 提高患者的现有生活质量^[10], 但其具体作用机制尚不明确, 由

于网络药理学是基于系统生物学的理论, 可从多方面系统分析中药治疗疾病的作用机制及成分与靶点之间的关系, 从而为新药临床试验或实验提供有效依据, 故研究基于网络药理学对冬虫夏草治疗结肠癌的成分、靶点及通路进行探讨, 分析其潜在的作用机制, 进一步为临床研究或实验提供依据。

1 材料与方法

1.1 冬虫夏草活性成分与靶点基因获取

通过中药药理数据库和分析平台数据库 (<http://tcmspw.com/tcmsp.php>) 以“冬虫夏草”为关键词, 检索其化学成分, 并以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$, 药物相似性 (DL) ≥ 0.18 作为筛选标准, 获得冬虫夏草活性化合物及其相关靶点; 以 PubChem 数据库 (<http://pubchem.ncbi.nlm.gov/>) 获取其活性成分的 Smiles, 并通过 Swiss 数据库 (<http://swisstargetprediction.ch/>) 补充其相关活性成分靶点, 最后通过 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 将其相关靶点蛋白标准化, 限定物种为“*homo sapiens*”, 获取其基因名称及其基因 ID。

1.2 结肠癌靶点获取

以“Coloncancer”为关键词在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)

//www.genecards.org/) 和 OMIM 数据库 (<http://www.omim.org/>) 中检索结肠癌的作用靶点。根据 4 倍中位数筛除 GeneCards 数据库中 Score 值较低的作用靶点, 并与 OMIM 数据库中获得靶点合并去重后得到结肠癌疾病的作用靶点。

1.3 药物 - 成分 - 靶点 - 疾病网络构建

将冬虫夏草靶点基因与疾病基因导入 Venny 数据库 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>), 得到二者的交集作用靶点并绘制其 Venn 图; 将其得到的交集作用靶点通过 Cytoscape 3.6.0 软件构建“药物 - 成分 - 靶点 - 疾病”网络图。

1.4 冬虫夏草 - 结肠癌靶点蛋白质 - 蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建

将上述得到的交集作用靶点导入 String 平台 (<https://string-db.org/>), 物种设定为“homo sapiens”, 设置过滤值“medium confidence”, 并隐藏离散点, 构建 PPI 网络图。

1.5 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析

将获得的交集作用靶点导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>), 进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析, 并通过 Omishare 数据库 (<https://www.omishare.com/tools/Home/Soft/seniorbubble>) 将其结果可视化。

1.6 冬虫夏草成分 - 靶点 - 通路相互作用网络图的构建

依据 KEGG 分析获得相关通路的作用靶点, 采用 Cytoscape 3.6.0 软件进行成分 - 靶点 - 通路相互作用网络图的构建, 并进行网络拓扑分析和可视化, 判断其核心靶点及核心活性成分。

2 结果

2.1 冬虫夏草有效化合物收集结果

根据 1.1.1 中的检索方法与筛选设置, 共得到有效化合物 7 个, 各化合物及其 OB 值与 DL 值见表 1。同时在 PubChem、Swiss 数据库中提取 7 个成分所对应的靶点蛋白, 去重后得到 307 个靶点。

表 1 冬虫夏草有效化合物表

序号	化合物编号	化合物名称	OB	DL
1	MOL001439	花生四烯酸 (arachidonic acid)	45.57%	0.2
2	MOL001645	亚油酸酯 (Linoleylacetate)	42.10%	0.2
3	MOL000358	β - 谷甾醇 (beta-sitosterol)	36.91%	0.75
4	MOL011169	过氧化麦角固醇 (Peroxyergosterol)	44.39%	0.82
5	MOL008998	啤酒甾醇 (cervisterol)	39.52%	0.77
6	MOL008999	胆固醇棕榈酸酯 (cholesteryl palmitate)	31.05%	0.45
7	MOL000953	CLR	37.87%	0.68

注: OB 为口服生物利用度, 与生物利用度直接关联; DL 为药物相似度 (类药性), 即成为药物的可能性。

2.2 结肠癌靶点获取

通过 GeneCards 数据库得到结肠癌相关靶点 20 241 个, 通过筛选设置 $\text{relevancescore} \geq 14.83$ (连续四次取中位数) 的目标靶点为结肠癌的潜在靶点, 最终获得 1 155 个相关靶点, 通过 OMIM 数据库补充结肠癌相关靶点 287 个, 筛重后获得疾病相关靶点 1 325 个。

2.3 药物 - 成分 - 靶点 - 疾病网络构建

利用 Venny 数据库将冬虫夏草的 307 个活性成分靶点与结肠癌的 1 325 个疾病靶点取交集, 共获得 100 个交集靶点。见图 1。运用 Cytoscape 3.6.0 构建“药物 - 成分 - 靶点 - 疾病”网络图。见图 2。该图中绿色方形代表靶点, 红色方形代表化合物, 黄色和蓝色方形分别代表冬虫夏草和结肠癌, 边代表相互作用关系。

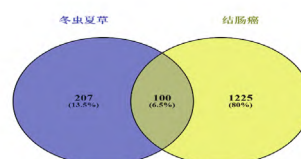


图1 冬虫夏草有效成分靶点和结肠癌相关靶点关系韦恩图

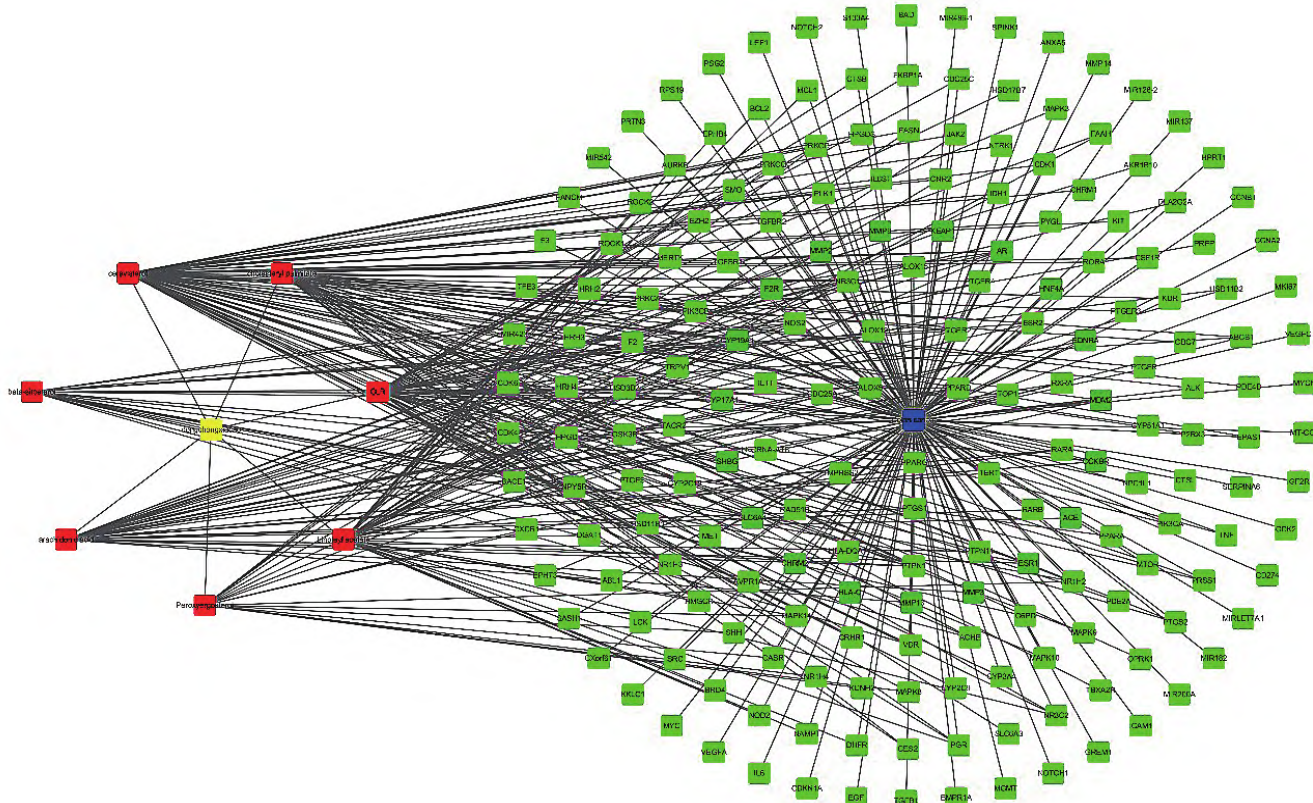


图2 冬虫夏草治疗结肠癌的药物-成分-靶点-疾病网络图

2.4 冬虫夏草-结肠癌靶点 PPI 网络的构建

将交集基因导入 String 平台, 构建 PPI 网络图, 可视化结果见图 3。此网络共有 100 个节点, 972 条边, 平均节点度 19.4。图中网络节点代表蛋白质, 边代表蛋白质与蛋白质的关联, 即蛋白质之间可能存在某些特定功能, 其中图中颜色不同的线条代表关系来源的不同, 浅蓝色线条表示从数据中获取及玫红色线条表示已被实验验证。

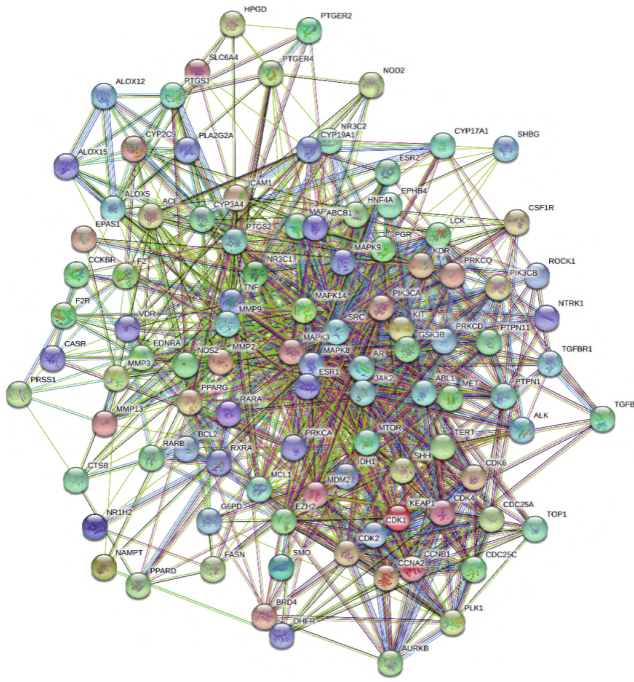


图3 冬虫夏草-结肠癌靶点蛋白质-蛋白质相互作用网络图

2.5 GO 功能富集分析

应用 DAVID 数据库对冬虫夏草治疗结肠癌共同靶点进行 GO 富集分析。结果显示冬虫夏草针对结肠癌的治疗主要涉及肽基丝氨酸磷酸化 (peptidyl-serine phosphorylation)、类固醇激素介导的信号通路 (steroid hormone mediate signaling pathway)、基因表达的正调控 (positive regulation of gene expression)、蛋白质磷酸化 (protein phosphorylation)、积极调控细胞增殖 (positive regulation of cell proliferation)、凋亡过程的负调控 (negative regulation of apoptotic process) 等生物学过程。见图 4。主要涉及类固醇激素受体活性 (steroid hormone receptor activity)、蛋白激酶活性 (protein kinase activity)、蛋白质结合 (protein binding)、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性 (protein serine/threonine kinase activity)、MAP 激酶活性 (MAP kinase activity)、细胞周期蛋白依赖性蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性 (cyclin-dependent protein serine/threonine kinase activity) 等分子功能。见图 5。主要涉及胞质溶胶 (cytosol)、核质 (nucleoplasm)、线粒体 (mitochondrion)、磷脂酰肌醇 3-激酶复合物 (phosphatidylinositol 3-kinase complex)、细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物 (cyclin-dependent protein kinase holoenzyme complex)、细胞周期蛋白 A2-CDK2 复合物 (cyclin A2-CDK2 complex) 等细胞组分。见图 6。

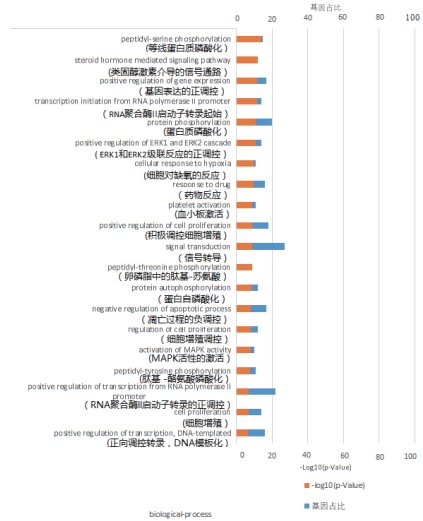


图4 冬虫夏草治疗结肠癌的生物学过程富集分析

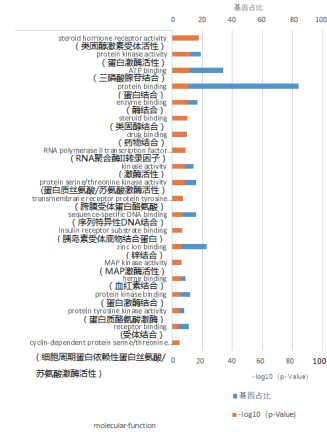


图5 冬虫夏草治疗结肠癌的分子功能富集分析

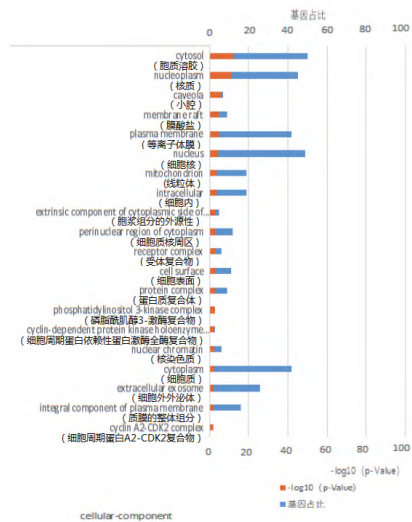


图6 冬虫夏草治疗结肠癌的细胞组分富集分析

2.6 KEGG 通路富集分析

将疾病和药物交集的关键靶点输入 DAVID 数据库, 共富集到 100 条通路。根据 $P \leq 0.01$ 选取相关 20 条通路。分析显示靶点显著富集于癌症通路 (Pathways in cancer)、催乳素

信号通路 (Prolactin signaling pathway)、TNF 信号通路 (TNF signaling pathway)、胰岛素抵抗 (Insulin resistance)、FoxO 信号通路 (FoxO signaling pathway)、PI3K-Akt 信号通路 (PI3K-

Akt signaling pathway)、细胞凋亡 (Apoptosis) 等, 选取 20 个集群最具代表性的富集通路条目详见表 2。通过 Omishare 数据库可视化结果。见图 7。

表 2 冬虫夏草作用于结肠癌的蛋白的富集通路表

条目	计数	P 值	基因
癌症相关通路	39	9.238 55E-24	SMO PTGER4 TGFBR1 CSF1R EPAS1 PRKCA MET MMP9 MAPK10 NOS2 AR RARA MDM2 NTRK1 CDK6 PPARG MTOR PTGER2 BCL2 SHH RXRA PPARC GSK3B RARB PTGS2 ROCK1 MAPK3 CDK2 ABL1 EDNRA KIT TGFBR2 PIK3CB MMP2 PIK3CA CDK4 MAPK9 F2R MAPK8
孕激素介导的卵母细胞成熟	15	6.048 89E-12	PGR MAPK3 CDK2 CDK1 MAPK10 CCNA2 CCNB1 PLK1 PIK3CB PIK3CA MAPK9 CDC25A MAPK14 CDC25C MAPK8
催乳素信号通路	13	1.202 62E-10	ESR1 JAK2 SRC ESR2 GSK3B PIK3CB PIK3CA MAPK9 CYP17A1 MAPK3 MAPK10 MAPK14 MAPK8
炎症介质对 TRP 通道的调控	14	4.497 97E-10	PTGER4 SRC ALOX12 PRKCA PRKCD MAPK10 PRKCQ PIK3CB PIK3CA MAPK9 NTRK1 MAPK14 PTGER2 MAPK8
乙型肝炎	16	6.654 94E-10	SRC PRKCA TNF MAPK3 MMP9 MAPK10 CDK2 CCNA2 PIK3CB CDK4 PIK3CA MAPK9 CDK6 MAPK8 BCL2
癌症中蛋白聚糖	17	7.599 94E-09	SMO SRC PRKCA MET ROCK1 TNF MAPK3 MMP9 ESR1 KDR MDM2 PIK3CB PIK3CA PTPN11 MMP2 MTOR MAPK14
肿瘤坏死因子信号通路	13	1.566 88E-08	PIK3CB MMP3 NOD2 ICAM1 PIK3CA PTGS2 MAPK9 TNF MAPK3 MMP9 MAPK14 MAPK10 MAPK8
胰岛素抵抗	13	1.743 43E-08	PRKCQ GSK3B PIK3CB PTPN11 PIK3CA MAPK9 TNF PRKCD MAPK10 MTOR PTPN1 NR1H2 MAPK8
神经营养蛋白信号通路	13	5.774 91E-08	GSK3B MAPK3 PRKCD MAPK10 ABL1 PIK3CB PIK3CA PTPN11 MAPK9 NTRK1 MAPK14 MAPK8 BCL2
结直肠癌	10	1.147 67E-07	TGFBR1 TGFBR2 PIK3CB GSK3B PIK3CA MAPK9 MAPK3 MAPK10 MAPK8 BCL2
查加斯病	12	1.201 57E-07	TGFBR1 TGFBR2 PIK3CB PIK3CA MAPK9 TNF MAPK3 MAPK14 MAPK10 NOS2 ACE MAPK8
破骨细胞分化	13	1.539 31E-07	TGFBR1 LCK TGFBR2 CSF1R PIK3CB PIK3CA MAPK9 TNF MAPK3 MAPK14 MAPK10 PPARG MAPK8
胰腺癌	10	1.749 36E-07	TGFBR1 TGFBR2 PIK3CB PIK3CA CDK4 MAPK9 MAPK3 CDK6 MAPK10 MAPK8
FoxO 信号通路	13	1.977 68E-07	TGFBR1 MAPK3 MAPK10 CDK2 CCNB1 PLK1 TGFBR2 MDM2 PIK3CB PIK3CA MAPK9 MAPK14 MAPK8
II 型糖尿病	9	1.993 96E-07	PIK3CB PIK3CA MAPK9 TNF MAPK3 PRKCD MAPK10 MTOR MAPK8
ErbB 信号通路	11	2.123 21E-07	SRC PIK3CB GSK3B PRKCA PIK3CA MAPK9 MAPK3 ABL1 MAPK10 MTOR MAPK8
慢性骨髓性白血病	10	4.310 34E-07	TGFBR1 TGFBR2 MDM2 PIK3CB PIK3CA CDK4 PTPN11 MAPK3 CDK6 ABL1
PI3K-Akt 信号通路	19	5.983 64E-07	RXRA CSF1R GSK3B PRKCA MET MAPK3 MCL1 KIT KDR JAK2 MDM2 PIK3CB CDK4 PIK3CA CDK6 MTOR F2R BCL2
非小细胞癌症	9	6.871 03E-07	RXRA PIK3CB RARB PRKCA PIK3CA CDK4 ALK MAPK3 CDK6
细胞凋亡	5	0.009 608618	PIK3CB PIK3CA TNF NTRK1 BCL2

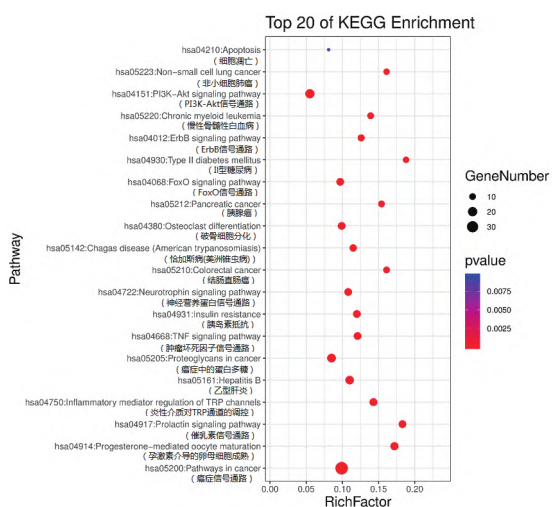


图 7 冬虫夏草对结肠癌作用靶点 KEGG 通路富集分析气泡图

2.7 冬虫夏草成分 - 靶点 - 通路相互作用网络图的构建

采用 Cytoscape 3.6.0 软件构建冬虫夏草治疗结肠癌的“有

效成分 - 靶点 - 通路”网络。见图 8。图中涉及 20 条通路, 7 个有效成分, 150 个基因。以绿色、紫色、蓝色分别表示通路、有效成分和潜在靶点基因。通过 Network Analyzer 进行网络拓扑分析, 成分结果显示啤酒甾醇的连接度为 62, 紧密度为 0.465 608 47, 预测其为冬虫夏草治疗结肠癌的最主要成分, 其次为 CLR、亚油醇酯、花生四烯酸、胆固醇棕榈酸酯、β- 谷甾醇、过氧化麦角固醇。基因结果显示磷脂酰肌醇 -3 激酶催化亚基 β (Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Beta, PIK3CB)、磷脂酰肌醇 3- 激酶催化亚基 α (Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha, PIK3CA) 连接度均为 21, 紧密度均为 0.40091116, 预测其为最主要的作用靶点, 其次为促分裂原活化蛋白激酶 8 (Mitogen-Activated Protein Kinase 8, MAPK8)、促分裂原活化蛋白激酶 14 (Mitogen-Activated Protein Kinase 14, MAPK14)、糖原合成酶激酶 3β (Glycogen Synthase Kinase 3 Beta, GSK3B) 等。见表 3。

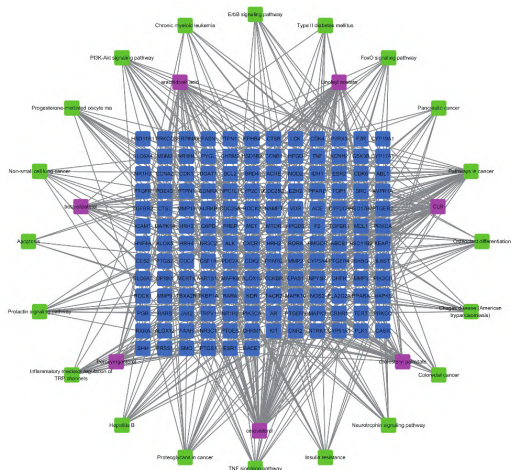


图8 冬虫夏草成分-靶点-通路相互作用网络图

表3 冬虫夏草主要活性成分及靶点网络节点特征参数

成分	连接度	紧密度	基因名	连接度	紧密度
啤酒甾醇 (cerevisisterol)	62	0.465 608 47	PIK3CB	21	0.400 911 16
化合物 (CLR)	36	0.407 407 41	PIK3CA	21	0.400 911 16
亚油醇酯 (Linoleylacetate)	36	0.403 669 72	MAPK8	17	0.400 911 16
花生四烯酸 (arachidonicacid)	32	0.392 857 14	MAPK14	13	0.447 837 15
胆固醇棕榈酸酯 (cholesterylpalmitate)	31	0.392 857 14	GSK3B	10	0.412 177 99
β -谷甾醇 (beta-sitosterol)	20	0.360 655 74	TNF	9	0.333 965 84
过氧化麦角固醇 (Peroxysterol)	17	0.374 468 09	TGFBR2	8	0.361 396 3

注: PIK3CB 为磷脂酰肌醇-3 激酶催化亚基 β , PIK3CA 为磷脂酰肌醇-3- 激酶催化亚基 α , MAPK8 为丝裂原活化蛋白激酶 8, MAPK14 为丝裂原活化蛋白激酶 14, GSK3B 为糖原合成酶激酶 3 β , TNF 为肿瘤坏死因子, TGFBR2 为转化生长因子 β 受体 2。

3 讨论

本文通过网络药理学方法对冬虫夏草治疗结肠癌的活性成分、作用靶点及其信号通路进行分析,探究其中可能存在的作用机制。本研究通过中药药理数据库和分析平台数据库获取冬虫夏草相关活性成分 7 个,分别为花生四烯酸、亚油醇酯、 β -谷甾醇、过氧化麦角固醇、啤酒甾醇(Cerevisisterol)、胆固醇棕榈酸酯、CLR,并由 Swiss 数据库补充相关成分靶点,最后通过 Uniprot 数据库将其靶点标准化,获取相关基因名称及基因 ID,去重后最终得到 307 个靶点;通过 GeneCards 和 OMIM 数据库获取结肠癌疾病基因,筛选后获得疾病相关靶点 1 325 个;通过 Venny 数据库获得两者交集靶点为 100 个,并通过蛋白质间相互作用分析进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析,并对冬虫夏草治疗结肠癌的相关靶点机制进行网络构建与分析,结果显示冬虫夏草主要涉及线粒体、磷脂酰肌醇 3- 激酶复合物、细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物、细胞周期蛋白 A2-CDK2 复合物等细胞组分和类固醇激素受体活性、蛋白激酶活性、MAP 激酶活性、细胞周期蛋白依赖性

蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性等分子功能,参与肽基丝氨酸磷酸化、类固醇激素介导的信号通路、蛋白质磷酸化、积极调控细胞增殖、凋亡过程的负调控等生物学过程,并经由癌症通路、TNF 信号通路、FoxO 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、细胞凋亡等通路治疗结肠癌,证实了冬虫夏草治疗结肠癌具有多成分、多靶点、多通路的特点。

结果显示,冬虫夏草治疗结肠癌的主要活性成分有 7 种,其中花生四烯酸在体内的代谢途径主要由脂酶催化或由环氧酶催化,其中环氧酶途径的限速酶为环氧化酶^[11],而其同工酶环氧合酶-2 只会是一些病理状态下(如风湿性关节炎、结肠癌等)其表达量会迅速上升^[12],该酶与结肠癌的发生、发展密切相关,其可影响肿瘤细胞的增殖与凋亡、影响血管的生成等^[13]。现代药理学研究表明, β -谷甾醇可降低血清胆固醇,也可抗炎、抗肿瘤等^[14],其在治疗结肠癌、前列腺癌等疾病中具有重要作用^[15]。其过氧化麦角固醇具有抗氧化、促进细胞凋亡等作用。Takei T 等^[16]实验表明过氧化麦角固醇在浓度为 25 microM 时完全可以抑制 HL60 细胞的生长并诱导其凋亡。Nowak R 等^[17]体外研究结果揭示了过氧化麦角固醇物对人结肠癌细胞 LS180 的抗增殖作用。Kobori M 等^[18]通过实验研究得出过氧化麦角固醇可诱导氧化应激诱导基因和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂周期蛋白依赖激酶抑制因子 1A 的表达,并抑制信号转导因子和转录激活因子 1 和干扰素诱导基因。现代研究表明,甾醇类具有抗炎和抗氧化性压力的有益作用^[19]。Alam MB 等^[20]研究表明啤酒甾醇对小鼠腹腔巨噬细胞的炎症反应有调节作用,啤酒甾醇能够降低脂多糖诱导的巨噬细胞肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素- 1β 和白细胞介素-6 的基因表达和蛋白水平。

通过本研究发现,冬虫夏草治疗结肠癌的交集靶点基因中,PIK3CB、PIK3CA 为其最主要的作用靶点,其次为 MAPK8。磷脂酰肌醇 3- 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)具有脂质激酶和蛋白激酶双重活性的异质二聚体,其可通过活化蛋白激酶 B (Akt)参与肿瘤细胞增殖、分化及凋亡等过程^[21]。而该过程中的关键分子为 PIK3CA、PIK3CB,二者在大肠癌组织中存在高度表达,且与该疾病分化程度、淋巴结是否发生转移等病理因素密切相关^[22]。其中 PIK3CB 的表达直接影响结肠癌细胞增殖速度^[23]。蒋健坤等^[24]研究发现 PIK3CA 基因在结肠癌中存在高频率突变,该基因的突变会导致 AKT1/2 蛋白表达上调,其可能会在结肠癌进展过程中起着重要的作用。丝裂原激活的蛋白激酶通路可调节许多细胞功能,包括细胞增殖、分化、迁移和凋亡^[25],且其是细胞内的主要信息传递系统^[26]。

KEGG 通路富集分析结果癌症通路、PI3K-Akt 信号通路、细胞凋亡等为冬虫夏草治疗结肠癌的主要信号通路。其中 PI3K-Akt 信号通路在肿瘤疾病中发挥着重要的作用^[27-28]。PI3K/Akt 信号通路的过度激活会导致肿瘤抑制蛋白 p53 表达的下降,从而促进蛋白质的合成与肿瘤细胞的增殖,抑制细胞的凋亡^[29]。唐剑等^[30]研究发现人结肠癌 HT-29 细胞增殖可受到 PI3K/Akt 信号通路的抑制,其机制可能与抑制其转导通路下游 P-糖蛋白表达、使细胞周期阻滞于 G1 期有关。目前仅有的文献报道过对冬虫夏草治疗结肠癌的作用机制,称其

作用通路可能与细胞凋亡有关,牛明了等^[31]研究发现冬虫夏草提取物可抑制 HT-29 细胞增殖,这可能与增加半胱氨酸蛋白酶蛋白的表达及与诱导细胞凋亡有关,但其他通路还待更多进一步发现和实验验证。

综上,本研究基于网络药理学方法,对冬虫夏草治疗结肠癌可能存在的作用机制进行初步探讨,而本文中预测的作用靶点与已知文献报道的冬虫夏草治疗结肠癌的作用基本吻合,体现了其靶点预测具有的准确性,同时揭示了冬虫夏草是从多成分、多靶点、多通路来治疗结肠癌,并为实验验证及临床研究进一步提供依据。由于本研究仍存在一定的局限性,如数据库的不同搜集到的靶点不尽相同,从而可能会存在缺失;对于数据处理采取不同的筛选标准等,因此仍需要进一步的实验研究来验证及补充本研究的结果。

参考文献:

- [1]MAIDA M,MACALUSO FS.Screening of colorectal cancer:present and future[J].Expert Rev Anticancer Ther,2017,17(12):1131-1146.
- [2]贾玉斌,马晓慧,孙敏捷.基于代谢组学的结肠癌早期诊断与预后监测研究进展[J].中华肿瘤防治杂志,2019,26(11):815-820.
- [3]沈佳雯,罗会,宁倪,等.近年中药治疗结肠癌的药理作用研究进展[J].中华中医药学刊,2017,35(10):2544-2546.
- [4]国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].一部.北京:中国医药科技出版社,2015:115.
- [5]ZHAO J, XIE J, WANG LY,et al.Advanced development in chemical analysis of Cordyceps[J].J PHARMACEUT BIOMED,2014,87:271-289.
- [6]SHASHIDHAR MG,GIRIDHAR P,SANKAR KU,et al.Bioactive principles from Cordyceps sinensis:a potent food supplement-a review[J].J Funct Foods,2013,5(3):1013-1030.
- [7]钱正明,李文庆,孙敏甜,等.冬虫夏草化学成分分析[J].菌物学报,2016,35(4):476-490.
- [8]SHASHIDHAR M G,GIRIDHAR P,SANKAR K U,et al.A polysaccharide isolated from Cordyceps sinensis,a traditional Chinese medicine, protects PC12 cells against hydrogen peroxide induced injury[J].J. Funct. Foods,2013,5(3):1013-1030.
- [9]田野,李文佳,钱正明,等.冬虫夏草抗肿瘤活性药理实验和临床研究进展[J].沈阳药科大学学报,2017,34(10):943-950.
- [10]田劭丹,李冬云,侯丽,等.冬虫夏草抗肿瘤研究进展[J].实用中医内科杂志,2006,20(1):7-9.
- [11]邱建波,龙启才.COX-2选择性抑制剂防治肿瘤的研究进展[J].中国肿瘤,2003,12(2):33-37.
- [12]ROBERT W,MCMURRAY MD,KENNETH J,et al.Cox-2 inhibitors: today and tomorrow[J].AM J Med Sci,2002,323(4):181-189.
- [13]李玉琴,施建平.环氧酶-2抑制剂在抗结肠癌中的研究进展[J].国际消化病杂志,2019,39(3):185-188.
- [14]BIN SAYEED M S,AMEEN S S .Beta-Sitosterol:A Promising but Orphan Nutraceutical to Fight Against Cancer[J].Nutrition & Cancer,2015,67(8):1241-1220.
- [15]TEJASHREE,MAHADDALKAR,CHARU,et al.Biochemical characterization and molecular dynamic simulation of β -sitosterol as a tubulin-binding anticancer agent[J].Eur. J. Clin. Pharmacol,2015,76(2):154-162.
- [16]TAKEI T,YOSHIDA M,OHNISHI-KAMEYAMA M, et al.Ergosterol peroxide,an apoptosis-inducing component isolated from Sarcodon aspratus (Berk.)S.Ito[J].Biosci Biotechnol Biochem, 2005,69(1):212-215.
- [17]NOWAK R,DROZD M,MENDYK E, et al.A New Method for the Isolation of Ergosterol and Peroxyergosterol as Active Compounds of Hygrophoropsis aurantiaca and in Vitro Antiproliferative Activity of Isolated Ergosterol Peroxide[J].Molecules,2016,21(7):946.
- [18]KOBORI M,YOSHIDA M,OHNISHI-KAMEYAMA M, et al.Ergosterol peroxide from an edible mushroom suppresses inflammatory responses in RAW264.7 macrophages and growth of HT29 colon adenocarcinoma cells[J].Br J Pharmacol,2007,150(2):209-219.
- [19]VILAHUR G,BEN-AICHA S, DIAZ E,et al.Phytosterols and inflammation[J].Curr. Med. Chem,2018,26(37):6724-6734.
- [20]ALAM MB,CHOWDHURY NS,SOHRAB MH, et al.Cerevisterol Alleviates Inflammation via Suppression of MAPK/NF- κ B/AP-1 and Activation of the Nrf2/HO-1 Signaling Cascade[J].Biomolecules,2020,10(2):199.
- [21]张雪群,高卫,潘盼,等.PI3K/AKT及其相关因子在结肠癌中的表达[J].山东大学学报(医学版),2016,54(1):52-57.
- [22]王雷动,吴淑华,李扬扬,等.大肠癌中PIK3CA、PIK3CB与EGFR表达的相关性及其临床意义[J].世界华人消化杂志,2015,23(26):4200-4207.
- [23]张恩霖.免疫治疗联合静脉化疗对晚期结肠癌患者肿瘤负荷、免疫功能及癌细胞增殖活力的影响[J].海南医学院学报,2017,23(18):2550-2553.
- [24]蒋健坤,莫维光.结直肠癌组织中PIK3CA基因突变与AKT1/2蛋白的表达及其意义[J].广西医学,2010,39(1):24-27.
- [25]SLATTERY ML,LUNDGREEN A,WOLFF RK.MAP kinase genes and colon and rectal cancer[J].Carcinogenesis,2012,33(12):2398-2408.
- [26]姜恩平,李贺,于春艳,等.五味子乙素通过p38 MAPK信号通路对结肠癌SW480细胞凋亡和侵袭的影响[J].吉林大学学报(医学版),2015,41(4):675-679,885.
- [27]张春梅,刘红玲.PI3K-AKT-mTOR信号通路在后发性白内障中作用的研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志,2017,31(3):297-299.
- [28]康争春,鄂继福,于恩达,等.基于癌症基因组图谱数据库探索结肠癌拷贝数变异基因及其功能通路[J].西部医学,2019,31(7):994-1001.
- [29]谢春林,侯冠峰,胡宪文,等.PI3K/Akt信号通路在瑞芬太尼后处理抑制脑缺血再灌注损伤的作用[J].安徽医学,2013,41(12):1737-1739.
- [30]唐剑,贺菊乔,杨怡玲,等.PI3K/Akt信号通路对人结肠癌HT-29细胞增殖的影响[J].中华实用诊断与治疗杂志,2018,32(3):218-221.
- [31]牛明了,甄欢欢,周晓丽,等.冬虫夏草提取物对结肠癌HT-29细胞增殖和凋亡的影响及其机制[J].中华中医药学刊,2017,35(1):73-75.

作者简介:

邵静, 通讯作者。

编辑: 张怀锦 编号: EA-2210628342 (修回: 2021-10-13)