

运用网络药理学和分子对接技术分析半边莲对治疗肺癌的作用机制

杨青斌 徐静^(通讯作者) 马超 李进 向兰

(贵州中医药大学第二附属医院)

摘要: 该文章主要运用网络药理学和分子对接技术对半边莲的有效活性成分进行分析,并探讨半边莲抗肺癌的作用机制。基于对 TCMSp 的检索掌握有关半边莲包含的有效成分的相关信息,同时获取其作用靶点数据,在 GeneCards 以及 Drugbank 等多个数据库的支持下,收集一系列肺癌疾病方面的靶点信息,以为文章课题的研究提供切实可行的参考依据,确保课题研究的客观性和真实性。通过对 STRING 数据库文献的引用和参考,顺利实现了对疾病和药物的共同靶点以及蛋白质-蛋白质彼此作用关系网络的建立,为后文研究予以了技术和资料方面的支持。结合 Cytoscape3.7.1 软件提供的一系列功能,成功构建了“成分-靶点-通路”体系,同时将该网络体系运用到对半边莲的抗癌过程和作用机制的探索之中,借助 Matescape 功能模块顺利实现了对共同靶点和 KEGG 通路的富集处理;除此之外,出于对课题研究严谨性方面的考量,文章还利用了 AutoDock 展开了就活性成分与关键靶点间分子对接情况的探究,获取了所需的实验结果,得到了一系列研究成果。结果表明,筛选得到半边莲主要活性成分 71 个,有效活性成分 16 个,药物靶点 189 个,半边莲与肿瘤疾病共同靶点 27 个。蛋白互作图显示, HSP90AAA1、PPARG、PTEN、MYC、NOS3、TGFB1 和 CYP3A4 可能是半边莲治疗癌症疾病的关键靶点。分子对接结果表明,半边莲关键靶点 PPARG 基因的对接亲和力最高,为 38.07 kJ/mol。文章通过对课题的研究,顺利实现了对半边莲的基本药理原理的掌握和认识,分析了该物质在治疗肺癌方面发挥的积极作用,为之后相关研究探索提供了切实可行的参考依据。**关键词:** 网络药理学;分子对接;半边莲;肺癌;作用机制

肺癌是原发性支气管肺癌的缩写。作为从支气管粘膜、肺腺病变引发的一类肿瘤疾病,其给民众的身心健康造成了极大的影响。结合相关方面的数据资料可知,这类恶性肿瘤是目前全球范围内患病人数增长最快的疾病。如何从临床治疗的角度提高对这一疾病的治疗水平,保障全人类的生命健康,成为了目前医学界关注的重点问题[1-6]。药理研究表明半边莲具有抗肿瘤、抗高血压、抗菌、蛋白激酶结合和细胞因子受体结合活性[7]。半边莲之所以能够在控制癌症恶化方面发挥正向作用,主要是由于其可以在一定程度上诱导癌细胞凋亡,并弱化癌细胞的繁殖生长能力,降低肿瘤血管的生成概率,从而表现出癌症抑制的特性[8]。目前,半边莲抗癌作用的研究还很有限,关于其具体药效物质基础和作用机制的报道也很少。因此,在网络药理学和分子对接的基础上分析半边莲的抗癌机制,可以为半边莲的临床应用研究提供一定的科学依据。

1 材料与方

1.1 软件与数据库

UniProt 蛋白数据库 (<https://www.uniprot.org/>), DrugBank 数据库 (<http://www.drugbank.ca/>), Cytoscape3.7.1 软件 (<https://cytoscape.org/>), GeneCard 数据库 (<https://www.genecards.org/>), Stringdb 数据库 (<https://stringdb.org/>), Metascape 数据库等。

1.2 半边莲活性成分的筛选

检索 TCMSp 数据库可知,在半边莲之中包含有多种化学成分,这些成分在抑制癌细胞生长繁衍方面发挥了积极作用。截止到 2021 年 12 月,TCMSp 数据库通过获取和分析口服生物利用度顺利实现了对半边莲内部活性成分的获取。在掌握其基本成分组成后,专家学者又基于 Uniport 数据库对其加以了基因标准化核对工作,即对原本的靶点蛋白名称展开转化,使其能够形成对应的基因名称。

1.3 半边莲活性成分-靶点网络的构建

在 TCMSp 数据库的支持下,获悉了在半边莲之中的主要活性成分,同时根据各个成分所对应的靶点,通过 Cytoscape3.7.1 提供的功能支持实现了对“活性成分-靶点”网络结构的顺利构建。

1.4 肺癌靶点信息的筛选

在 Genecard 数据库中输入关键词“Lungcancer”,由于获得相关靶点过多且有部分靶点与肺癌关联分数所以通过 Excel 筛选关联

分数列中位数的方式,筛选 4 次后获得最适中位数 12.43,之后通过 Relevancescore \geq 12.775 对所得靶点进行筛选,从而顺利获取了 GeneCards 内部有关于肺癌的靶点数据;在 Drugbank 数据库中输入关键词“Lungcancer”进行搜索,得到 Drugbank 数据库肺癌相关靶点信息。对前文论述的数据库展开进一步的数据选择和处理,完成了对重复靶点信息的去除,保证了数据的简单性。

1.5 半边莲活性成分靶点和肺癌疾病靶点的可视化

网络数据图运用 Unitprot 数据库对“1.3”项和“1.4”项所得蛋白质靶点数据进行标准化,采用 VENN2.1 对半边莲活性成分作用靶点与肺癌疾病靶点进行交集,然后运用 Cytoscape3.7.1 软件展开了相关作用靶点网络图的构建,分析图示主要包括半边莲活性成分靶点图,其有助于后续分析系列靶点的作用机制,除此之外还有其同肺癌疾病靶点所产生的可视化网络数据图。

1.6 半边莲治疗肺癌疾病靶点蛋白互作网络构建

将前文获取得到等“1.5”项半边莲活性成分作用靶点进一步联合在 STRING11.0 数据库内获悉的肺癌疾病靶点展开其交集的划分,确定对应的交集靶点,以此来掌握靶点预测蛋白之间的彼此影响效应。在设置中选取蛋白间最低互作得分 >0.700 作为蛋白之间相互作用的信度依据,同时就分布于网络联结之外的部分节点采取隐藏措施,以此获得结构相对而言比较简单的蛋白互相影响的网络图。

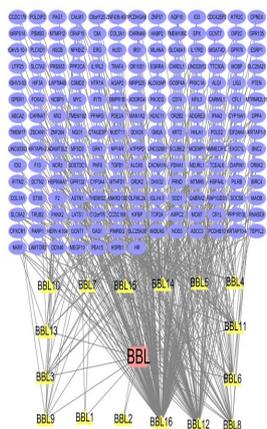
2 结果与分析

2.1 半边莲的活性成分的筛选

日常生活中所见的中药基本上属于口服,其口服之后在人体之中依次经过吸收、分布、代谢和外排四个阶段,即 ADME,是传统口服中药必经的人体代谢过程。OB 值和 DL 值是 ADME 系统的 2 个主要性能指标,其中以 OB 值 ≥ 30 ,DL ≥ 0.18 作为中草药类药化合物的筛选标准,筛选出了 17 个符合条件的半边莲的活性化合物。结合相关文献可知,其内部具有的活性化合物多达 16 个,主要包括 1,5-二甲基己基(1,5-dimethylhexyl)、利那林(Linarin)、洛贝尼定(Lobelanidine)、半边莲碱(Lobelanine)、菊苣醇(Chryseriol)、山奈酚(Kaempferol)、羟基奎宁(Hydroxygenkwanin)、木犀草素(Luteolin)、中间树脂(Medioresinol)和槲皮素(Quercetin)等多个成分。

2.2 半边莲活性成分-靶点网络的构建

正如前文所述,为能够掌握半边莲内部存在的活性成分的靶点,本文对 TCMSP 数据库之中的相关文献进行了引用,通过分析资料总结出共计 417 个药物靶点蛋白。通过将把这些蛋白输入到 Uniport 数据库之中,获得了靶点蛋白所对应的基因名,而其中多个蛋白如 Cell division protein kinase 2、mRNA of PKA Catalytic Subunit C-alpha 等均尚未获取到其基因名称,其中 4 个蛋白 isoforms 1/2/3、78 kDa glucose-regulated protein、Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A、DNA gyrase subunit B Peroxidase C1A 的对应基因为非人源基因,对重复出现的基因加以剔除之后,最后具有对应基因的靶点蛋白共计 189 个,见图 1。



注:红色四边形为半边莲(图中用“BBL”表示);
黄色三角形为有效活性成分(图中用“BBL+数字”标识);
蓝色圆形为靶点。

2.3 半边莲作用肺癌靶点蛋白互作网络构建

将所得的共同靶点输入到 STRING 数据库之中后,对蛋白参数加以设置,促使其评分值在 0.400 以上,这样一来便可以顺利实现对蛋白互相影响机制方面有关数据的顺利获取。将网络信息 TSV 数据格式导入 Cytoscape3.7.1 软件构建各蛋白互相作用的 PPI 网络后,进行拓扑分析,其中 HSP90AA1、PPARG 基因的节点度值为 13, MYC 基因的节点度值为 12, PTEN 基因的节点度值为 11, NOS3 基因的节点度值为 9, TGFBI 基因的节点度值为 7,明显高于其他靶点,见图 2。

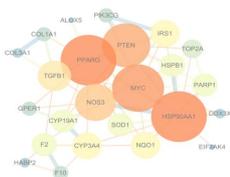


图 2: 半边莲治疗癌症疾病靶点蛋白互作 PPI 图

3 讨论

近年来随着我国医学医疗事业的不断进步,互联网行业的崛起以及药物信息学的迅速发展,网络药理学作为一门新兴起的新学科,它具备有整体性和系统性的特点,把药物与疾病相互结合,探究药物、疾病与靶点之间的相互作用,以此来直接验证了中药多组分-多靶点所体现出的相互协同,彼此影响的显著特性。它是一种

更全面、更系统的研究技术,符合中医整体观和辨证论治的治疗原则[9]。其次,中药具有多成分、多靶点的特点,网络药理学可以用来探索中药的有效活性成分,以及中药有效活性成分与各种疾病靶点之间的相互作用,为中药的下一步研究提供一定的参考[10]。

利用对 TCMSP 数据库的进一步信息检索,最终获取了半边莲内部具有的 17 种成分。通过查阅相关文献,获得了 16 个经实验确认的活性化合物,包括 1,5-二甲基己基(1,5-dimethylhexyl)、利那林(Linarin)、洛贝尼定(Lobelinidine)、半边莲碱(Lobelanine)、菊苣醇(Chryseriol)、山奈酚(Kaempferol)、羟基奎宁(Hydroxygenkwanin)、木犀草素(Luteolin)、中间树脂(Medioresinol)和槲皮素(Quercetin)等等,需要注意的是相比较其他成分而言,槲皮素在其中能够进行相互作用的靶蛋白最多,数量多达 28 个。这也就意味着槲皮素极有可能是半边莲能够发挥癌细胞生长抑制作用的主要成分。而目前槲皮素在自然界中大面积分布,且其药理活性也比较积极,可以在特定环境下实现对自由基的抗氧化和清除处理。它能够抑制许多恶性肿瘤细胞的生长,如人类卵巢癌、乳腺癌和胃肠道癌细胞,并对恶性肿瘤细胞的凋亡有作用。槲皮素的抗癌作用包括通过调节 PI3K/Akt/mTOR、Wnt/Catenin 和 MAPK/ERK1/2 途径促进细胞活力丧失、凋亡和自噬,以及槲皮素在癌症代谢中的作用,特别是其靶向参与糖代谢和线粒体功能的分子途径的能力。

4 结论

为了能够对半边莲多组分、多靶点问题形成深刻的认识和了解,本文在结合前人研究经验和成果的基础上,从网络药理学的角度对分子对接有关策略加以了应用,最终得到的结果同之前研究文献结论基本相同。

参考文献:

- [1]陈万青,郑荣寿,曾红梅等.2011 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J].中国肿瘤,2015,24(01):1-10.
- [2]姚晓军,刘伦旭.肺癌的流行病学及治疗现状[J].现代肿瘤医学,2014,22(08):1982-1986.
- [3]程治青.半边莲的介绍[J].中药通报,1956(06):247-248.
- [4]刘嘉湘.中医药治疗肺癌研究思路和临床经验[J].世界中医药,2007(02):67-70.
- [5]俞志明.抗肿瘤植物的筛选及其有效成分的分离纯化[D].浙江工业大学,2005.
- [6]韩钰颖.半边莲抗肿瘤作用研究进展[J].山西中医学院学报,2016,17(02):71-72.
- [7]陈建新.半边莲的活性成分研究[D].暨南大学,2010.
- [8]黄钲凯,梁明坤,陆飞国等.基于网络药理学的半边莲-半枝莲药对抗胃癌相关作用机制研究[J].药物分析杂志,2020,40(07):1243-1253.
- [9]刘志华,孙晓波.网络药理学:中医药现代化的新机遇[J].药理学学报,2012,47(06):696-703.DOI:10.16438/j.0513-4870.2012.06.001.
- [10]沈乐乐,席建元,孙立新等.基于网络药理学及分子对接技术分析“半边莲-白花蛇舌草”药对治疗银屑病的作用机制[J].天然产物研究与开发,2021,33(12):2136-2145.