基于生物信息学分析探讨柚皮素治疗宫颈癌的分子作用机制

To explore the molecular mechanism of Naringin in the treatment of cervical cancer based on bioinformatics analysis

李浩颖[1]　唐康[1]　周吉(通讯作者)

Li hao-ying 1 Tang Kang 1 Zhou Ji (corresponding author)

（长沙医学院 临床学院　湖南长沙　410219）

Changsha Medical University, Clinical College, Changsha 410219, China

摘要：目的：该研究旨在通过网络药理学预测柚皮素治疗宫颈癌的关键靶点。方法：通过预测出柚皮素的潜在靶点，与此同时并建立宫颈癌靶点数据库并筛选出两者对应的作用靶点。然后使用 string 等平台软件构建网络来分析靶点的相互关系。结果：本研究共收集了 245 个柚皮素的潜在靶点，筛选出 76 个潜在作用靶点。此外，我们也通过 GO 富集分析 1000 余条信号通路，KEGG 富集分析结果包括 115 个生物过程，其中就包含有与癌症密切相关的 PI3K-Akt 通路、MAPK 通路通路。结论：本研究结果揭示了柚皮素通过多种机制对宫颈癌具有治疗作用，为进一步的临床药物研究提供了理论基础。

Abstract: Obeject: This study aims to predict the key targets of naringenin in the treatment of cervical cancer using network pharmacology. Methods: Potential targets of naringenin were predicted, and a cervical cancer target database was established to identify corresponding targets. Then network analysis was performed using software such as STRING to analyze the interactions among the targets. Result: A total of 245 potential targets of naringenin were collected, and 76 potential targets were screened. In addition, GO enrichment analysis revealed over 1000 signaling pathways, and KEGG enrichment analysis identified 115 biological processes, including the PI3K-Akt pathway and MAPK pathway, both closely associated with cancer. Conclusion: this study reveals that naringenin exhibits therapeutic effects on cervical cancer through multiple mechanisms, providing a theoretical basis for further clinical drug research.

关键字：柚皮素；宫颈癌；网路药理学

Keywords: Naringenin; Cervical cancer; Network pharmacology

在当今世界中，宫颈癌是仅次于乳腺癌的一种常见的妇科肿瘤疾病[1]，早在 2018 年的数据显示中，全球平均每年有 57 万的新发病例，其中约 37 万患者死亡，可见宫颈癌在全球各地都有着高发性[2]。在诊疗方面，西医主要采用放疗和化疗的方法对患者进行治疗，虽然此类方法能降低一定的死亡率，但伴随着较短的疗效和容易复发的缺点甚至严重毒副作用不容小觑，且在近年来，宫颈癌细胞已经对化疗药物产生抵抗性和耐药性,新型的免疫疗法也不太令人满意[3]，因此开发一类低副作用药物迫在眉睫。柚皮素，是水果、中草药中常见的二氢黄酮类活性成分，具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等广泛作用[4]，已有实验表明，柚皮素可以通过等多种信号通路来抑制肿瘤的发展，但目前大多实验仅限于单通路的挖掘且对宫颈癌的抑癌机制尚未有阐述，本文将着重运用网络药理学的方法对柚皮素抗宫颈癌的作用机制进行研究，为临床及药物研发打下基础。

1 实验与方法

1.1 实验及主要材料

Genecards 数据库、String 数据库、Pubchem 数据库、Metascape 数据库、Cytoscape 软件、Venny 工具、SwissTargetPrediction 平台

1.2 方法

1.2.1 作用靶点预测

在 Pubchem 数据库以“naringenin”为关键词搜索其结构，并在 SwissTargetPrediction 进行靶点预测。

1.2.2 疾病靶点数据库的建立

Genecards 数据库进行检索“cervical cancer”，并进行筛选，取可信度较高的宫颈癌的作用靶点。

1.2.3 网络构建及和靶点筛选

在获得柚皮素的潜在作用靶点和癌症的相关靶点后，通过 Venny 取交集，将得到的抗癌的作用靶点导入至 String 平台进行 ppi 分析，再导入至 Cytoscape 计算核心靶点。

1.2.4 通路富集可视化

将两者交集靶点导入至 Metascape，进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析，根据基因富集数目和程度，选取排名若干条生物过程通路。

2 结果

2.1 化合物靶点预测

以“naringenin”为检索词通过 PubChem 再将其导入至 SwissTargetPrediction 平台进行靶点预测，得到相应靶点 245 个。

2.2 疾病靶点数据库

以 cervical cancer 为关键词在 Genecards 数据库上检索，得到 7203 相关的靶点后进行筛选，共得到宫颈癌的疾病靶点 1989 个。

2.3 网络构建及靶点筛选

将所预测得到的柚皮素的潜在作用靶点以及所获得的疾病靶点通过 Venny2.1 取交集，得到共同靶点 76 个，再将其导入到 Cytoscape 中分析。将上述柚皮素的潜在作用靶点上传至 String 平台，获得相关的蛋白质作用网络并导入到 Cytoscape 中分析并比较，选出以下 5 个核心靶点蛋白激酶(AKT1)、人类表皮生长因子受体（EGFR）、胱天蛋白酶 3（CASP3）、雌激素受体 1（ESR1）、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)，这些靶点可能是柚皮素中发挥抗癌中作用较显著的靶点。

2.4 通路分析

通过 Metascape 平台对 76 个靶点进行 GO 功能富集分析，分别在细胞组分(CC)、分子功能(MF)、生物过程(BP)三大方面分析靶点参与的 GO 通路，取前 20 条基因富集数目最多及 P-adjust 值较可信的通路并通过 R 语言工具制图。

其中 CC 共有 89 个 GOTerm 相关，如图 1 所示，MF 中靶点与 98 个 GOTerm 相关，如图 2 所示，BP 中靶点与 1485 个 GOTerm 相关，如图 3 所示。按 $p<0.05$ 进行 KEGG 富集分析，其涉及 108 条相关信号通路，选取通路进行分析，通路包括癌症通路、癌症蛋白聚糖、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药信号通路等多条信号通路，表明柚皮素可能从多条通路作用在宫颈癌中发挥对抗作用。

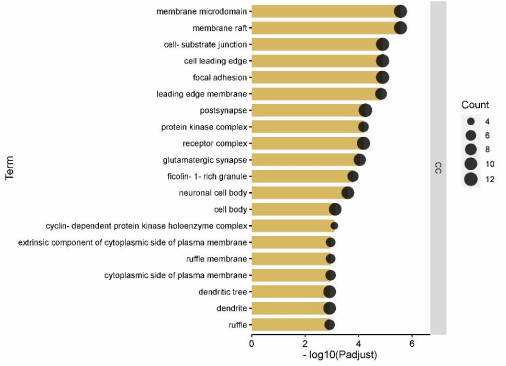

图 1 靶点所富集的细胞组分(GOCC)通路

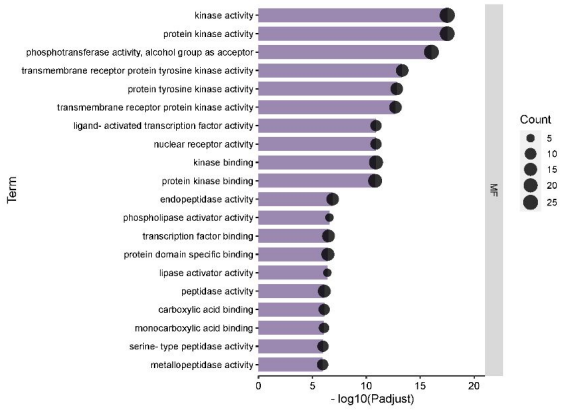

图 2 靶点所富集的分子功能(GOMF)通路

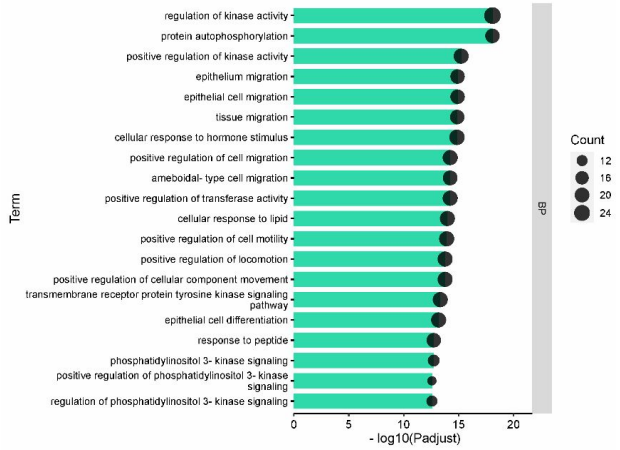

图 3 靶点所富集的生物过程(GOBP)通路

3 讨论

柚皮素是在各类中草药和水果广泛存在的黄酮类化合物[5]，且被认为是最重要的黄酮类化合物之一，其成分主要分布在水果蔬菜如马铃薯、佛手柑等[6]。迄今为止，柚皮素已被发现有抗癌、抗氧化等大量药理作用[7]，其中抗癌作用是近年来的研究热点，已有文献表明，柚皮素对多类肿瘤中都起到了突出的对抗作用[8]。

宫颈癌在全球医学统计中，发病率和死亡率都是居高不下，在当今传统治疗方法的缺点日益突出的情况下，研究新的诊疗手段已经迫在眉睫，在前期已有相关文献表明，柚皮素可通过相关通路抗宫颈癌。

本实验通过SwissTargetPrediction等平台预测到了柚皮素中245个潜在作用靶点和通过相关疾病数据库得到了1989个相关的宫颈癌靶点再进行KEGG以及GO富集分析，再进行ppi分析并筛选出5个核心靶点，其中核心靶点为CASP3、EGFR、SRC、MMP9、RHOA。MMP9属于基质金属蛋白酶家族，是一种蛋白质水解酶，能够破坏肿瘤细胞侵袭的组织学屏障、促进有丝分裂和血管生成因子的加工，细胞外基质受体相互作用信号通路是癌症发生的通路之一，其通路大多数是由MMP所参与[9]，已有文献表明，MMP与宫颈癌具有很强的关联性[10]。已经有研究表明MAPK信号通路参与了多种恶性肿瘤的发生发展，在癌细胞的存活、凋亡和转移中有着关键作用[11]。AKT1编码丝氨酸/苏氨酸激酶，在正常和病理细胞的生物过程中都发挥重要作用，且在抗肿瘤方面有着较大作用[12]，EGFR是一种受体酪氨酸激酶,具有酪氨酸激酶活性，已经有研究表明通过使用可下调EGFR的抑制剂，可抑制宫颈癌细胞Hela的生长增殖并诱导其凋亡[13]。在通路分析中，柚皮素中的潜在靶点还可以在PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、Rap1信号通路、Ras信号通路、EGFR信号通路等来控制宫颈癌的发展，其中Ya-Hui Chen等人采用Metformin进而抑制PI3K-Akt信号通路来发挥抗癌作用[14]。

综上所述，柚皮素中的多个潜在靶点能够相互作用于宫颈癌细胞并作用 PI3K/Akt、MAPK 等多条通路，从而在宫颈癌疾病中发挥重要的治疗作用。

参考文献：

[1]包君丽, 高欣元, 韩宇博, et al. 基于网络药理学与 GEO 差异基因芯片数据分析复方苦参注射液治疗宫颈癌的机理和分子靶点 [J]. 转化医学杂志, 2021, 10(04): 247-51.

[2]崔小妹, 钱立庭, 崔亚云, et al. 中晚期宫颈癌适形调强放疗联合三维腔内后装放疗的剂量学初步研究 [J]. 现代妇产科进展, 2019, 28(01): 31-4.

[3]周琦, 吴小华, 刘继红, et al. 宫颈癌诊断与治疗指南(第四版) [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(06): 613-22.

[4]吴静洁, 梅应兵, 姚雪婷, et al. 基于网络药理学及分子对接研究柚皮素抗胃癌机制 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2021, 29(02): 124-31.

[5]唐镜, 谭若兰, 吕中建, et al. 柚皮素的提取及其抗癌作用研究进展 [J]. 绿色科技, 2019, (08): 240-4.

[6]TUTUNCHI H, NAEINI F, OSTADRAHIMI A, et al. Naringenin, a flavanone with antiviral and anti-inflammatory effects: A promising treatment strategy against COVID-19 [J]. Phytotherapy research : PTR, 2020, 34(12): 3137-47.

[7]王丹, 彭莉, 周燕红. 柚皮素抗肿瘤作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 3151-6.

[8]李亚东, 张远起, 李建文. 柚皮素抗乳腺癌作用机制的研究进展 [J]. 中国医学创新, 2018, 15(07): 145-8.

[9]吴椒虹, 马必东, 陈育梅, et al. MMP 家族基因与宫颈癌的关系研究 [J]. 浙江医学, 2019, 41(02): 121-4+207-8.

[10]SINGH P, BANSAL S, KUHAD A, et al. Naringenin ameliorates diabetic neuropathic pain by modulation of oxidative-nitrosative stress, cytokines and MMP-9 levels [J]. Food & function, 2020, 11(5): 4548-60.

[11]顾庆虹. 基于网络药理学的八珍汤治疗宫颈癌作用机制研究 [D]; 兰州大学, 2021.

[12]王列, 申健, 高璐, et al. 跨膜蛋白 16A 通过激活 AKT1 信号通路对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、侵袭影响 [J]. 临床军医杂志, 2022, 50(08): 798-801+5.

[13]GALLAZZI M, BACI D, MORTARA L, et al. Prostate Cancer Peripheral Blood NK Cells Show Enhanced CD9, CD49a, CXCR4, CXCL8, MMP-9 Production and Secrete Monocyte-Recruiting and Polarizing Factors [J]. Frontiers in immunology, 2020, 11: 586126.

[14]CHEN Y H, YANG S F, YANG C K, et al. Metformin induces apoptosis and inhibits migration by activating the AMPK/p53 axis and suppressing PI3K/AKT signaling in human cervical cancer cells [J]. Molecular medicine reports, 2021, 23(1).

项目基金：湖南省大学生创新创业训练计划项目：湘教通〔2022〕174 号-4587；长沙医学院大学生创新创业训练计划项目：长医教〔2022〕41 号-037；

第一作者：李浩颍（2000-），男，本科在读，临床医学专业

并列第一作者：唐康 （2001-），男，本科在读，口腔医学专业

通讯作者：周吉（1987-），女，博士研究生，讲师，研究方向：生物技术