

DOI:10.12174/j.issn.2096-9600.2025.10.15

基于网络药理学和分子对接探讨调脾安肠方 治疗结直肠癌的作用机制*

张津铖¹,程志强^{2△}

1 北京中医药大学研究生院,北京 100029;

2 中日友好医院,北京 100029

[摘要] 目的:运用网络药理学和分子对接方法探究调脾安肠方治疗结直肠癌的作用机制。方法:通过BATMAN-TCM数据库检索并筛选调脾安肠方的活性成分及潜在作用靶点,利用TCGA、人类基因数据库(the human gene database, GeneCards)、在线人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)筛选结直肠癌相关靶点,取两者交集靶点。利用STRING在线平台获得蛋白互作关系,并通过Cytoscape v.3.9.0构建蛋白-蛋白互作(protein-protein interactions, PPI)网络, CytoNCA插件分析调脾安肠方干预结直肠癌关键靶点。通过ClusterProfiler程序包进行基因本体论(gene ontology, GO)和京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析,得到调脾安肠方干预结直肠癌的潜在作用通路,并利用Cytoscape v.3.9.0构建“成分-靶点-通路”图;采用AutoDock vina v.1.2.0、pymol v.2.4.0、Ligplot v.2.2.0进行分子对接验证。结果:调脾安肠方中筛选得到白桦脂醇、右旋香芹酮、吉马酮、反式肉桂酸等334个活性成分,以及IL-1 β 、NFKB1、AKT1等共同靶点636个,最终筛选出10个关键靶点和8个关键成分;富集分析得到PI3K/AKT、癌症中的微小RNA、脂质和动脉粥样硬化、Th17细胞分化、志贺氏菌病、沙门氏菌感染等30个显著相关通路;分子对接验证显示关键成分与关键靶点具有较强结合力。结论:调脾安肠方可能通过干预肠道菌群、免疫调节和血脂代谢等途径发挥治疗结直肠癌的作用。

[关键词] 结直肠癌;调脾安肠方;网络药理学;分子对接

[中图分类号] R273 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)10-0090-09

Mechanism of Spleen-regulating Intestine-calming Formula in the Treatment of Colorectal Cancer Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

ZHANG Jincheng¹, CHENG Zhiqiang^{2△}

1 Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2 China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Abstract Objective: To discuss the mechanism of spleen-regulating intestine-calming (Tiao-pi Anchang) formula in the treatment of colorectal cancer using network pharmacology and molecular docking. Methods: Active ingredients of the formula and their potential targets were retrieved from BATMAN-TCM database, and identified, TCGA, GeneCards and OMIM were utilized to identify the targets related to colorectal cancer, and then to obtain the intersection of both. STRING online platform was used to obtain protein interactions, to build PPI via Cytoscape v.3.9.0, and to analyze the key targets of the formula in colorectal cancer intervention using CytoNCA plug-in. GO and KEGG enrichment analysis were performed via clusterProfiler in order to obtain the potential pathway of the prescription for colorectal cancer intervention, Cytoscape v.3.9.0 was used to construct the "component-target-pathway" network; AutoDock vina v.1.2.0, pymol v.2.4.0 and Ligplot v.2.2.0 were applied to validate molecular docking. Results: A total of 334 active components including betulin, dextroracemone, germacrone, trans-cinnamic acid were identified in the prescription, together with 636 common targets such as IL-1 β , NFKB1 and AKT1, consequently, ten key targets and eight key ingredients were identified; enrichment analysis uncovered 30 significantly associated pathways such as PI3K/AKT, MicroRNAs in cancer, lipids and atherosclerosis, Th17 cell differentiation, shigellosis and salmonella infection; molecular docking verification showed that the key components have strong binding with the key targets. Conclusion: Spleen-regulating intestine-calming prescription could treat colorectal cancer possibly through intervening in gut flora, immune regulation and lipid metabolism.

Keywords colorectal cancer; spleen-regulating intestine-calming prescription; network pharmacology; molecular docking

结直肠癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一, 虽近20年来患者生存率明显提高,但其发病率和

死亡率仍呈上升趋势^[1]。中药复方及其提取物能够通过诱导细胞凋亡和抑制癌细胞增殖等途径发

挥治疗结直肠癌的作用,近年来有研究发现健脾类药物在防治结直肠癌相关不良反应等方面具有良好疗效^[2]。调脾安肠方是中日友好医院的院内中药复方制剂,由中西医结合肿瘤内科程志强依据结直肠癌患者临床常见症状创立,方由黄芪、鸡内金、沙棘、党参、山药、白扁豆、甘草、大枣、马齿苋、薏苡仁、茯苓、黄精、枸杞子、砂仁、莲子、佛手、香橼和山楂18味中药组成,在临床应用中取得较好疗效^[3]。目前,对于调脾安肠方现代药理学作用机制的研究尚处于起步阶段,其治疗结直肠癌的主要活性成分与作用靶点仍未明确。

早在1920年前后,中医药研究者便开始使用药理学手段对中药的作用机制进行探究^[4]。在当前大数据时代背景下,网络药理学作为一个交叉前沿学科,其多靶点、系统性、多途径的研究手段,与具有复杂成分的中药复方极具统一性,能从系统层次和生物网络角度预测并阐释中药复方的现代药理学作用机制。2021年4月,世界中医药学会联合会认证通过了《网络药理学评价方法指南》^[5],这为规范使用网络药理学进行中药现代化研究提供了准则。因此,本研究基于网络药理学方法,对调脾安肠方治疗结直肠癌的机制进行初步探索,以期对结直肠癌的防治提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 调脾安肠方相关靶点筛选 以BATMAN-TCM数据库(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>)和TCMID数据库(<http://www.megabionet.org/tcmid/>)中收录的植物及动物来源中草药成分为基础,与PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)或TCMID 交互,以DrugBank(<https://www.drugbank.ca/>)为目标,使用特定算法对目前已知结构的活性成分相关靶点进行预测并打分。在BATMAN-TCM数据库中检索调脾安肠方中18味中药活性成分,并通过TCMID补充最近更新的相关化学成分,设置Score cutoff=20, P_value cutoff=0.05,筛选出符合条件的成分及作用靶点,通过Chempid数据库(<http://www.chemspider.com/>)及ChemicalBook平台(<https://www.chemicalbook.com/>)统一InChIKey或CAS可查活性成分名称。根据已发表相关文献检索情况,剔除与本课题无关及具有毒性的活性成分,最终得到调脾安肠方活性成分及相关靶点列表。

1.2 结直肠癌相关靶点筛选 在TCGA数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)中设置Cases选项卡中Primary Site为Colon,Genes选项卡中Is Cancer Gene Census为true,其余保

持默认值,获取结直肠癌常见突变基因,然后在人类基因数据库(the human gene database, GeneCards, <https://www.genecards.org/>)、在线人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM, <http://www.omim.org/>)中以“colorectal cancer”为检索词,进行相关靶点补充。最后对3个数据库的相关靶点进行汇总与删重,得到结直肠癌相关靶点。使用R语言对调脾安肠方相关靶点和结直肠癌相关靶点取交集并绘制韦恩图。

1.3 调脾安肠方-结直肠癌靶点蛋白-蛋白互作(protein-protein interactions, PPI)网络构建 将“1.2”项中交集靶点录入STRING数据库(<https://string-db.org/>),物种选择“智人”,最小互相作用阈值选择0.400并隐藏孤立节点,其余保持默认值,获得原始PPI网络,输出为TSV后导入CytoScape v. 3.9.0进行可视化,并利用CytoNCA插件进行拓扑分析以进一步提取关键靶点,主要参数包括度中心性(degree centrality, DC)和介数中心性(betweenness centrality, BC)值。

1.4 调脾安肠方-结直肠癌靶点基因本体论(gene ontology, GO)与京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析 利用R3.6.1中的ClustProfiler程序包^[6]进行GO与KEGG富集分析,将GO富集分析中P值前30位的生物过程及KEGG富集分析中 $P < 0.05$ 的与结直肠癌密切相关的通路予以保留,使用微生信平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)对数据进行可视化。

1.5 调脾安肠方成分-结直肠癌靶点-通路网络图构建 运用CytoScape v. 3.9.0构建调脾安肠方成分-结直肠癌靶点-通路网络图,利用CytoScape v. 3.9.0内置工具进行拓扑分析,主要参数包括连接度(Degree)、介度(Betweenness)及紧密度(Closeness)等,并联合文献检索结果进一步筛选。

1.6 分子对接验证 选取调脾安肠方前8位核心活性成分以及筛选出的前10位核心靶点进行分子对接。在PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中下载8个核心活性成分的2D结构,利用Chem3D进行能量最低化。在PDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)中检索并下载10个核心靶点的3D结构,利用PyMOL v. 2.4.0软件对靶点蛋白进行除水、去除原配体,参照原配体及文献数据制定对接盒子的中心及大小。然后

运用 AutoDock vina v. 1. 2. 0 进行分子对接。最后用 pymol v. 2. 4. 0 作 3D 相互作用图, Ligplot v. 2. 2. 0 作 2D 相互作用图。

2 结果

2.1 调脾安肠方相关靶点 筛选后得到马齿苋活性成分 5 个, 沙棘活性成分 7 个, 党参活性成分 60 个, 黄芪活性成分 23 个, 山药活性成分 14 个, 白扁豆活性成分 3 个, 鸡内金活性成分 6 个, 薏苡仁活性成分 4 个, 茯苓活性成分 15 个, 大枣活性成分 35 个, 甘草活性成分 73 个, 黄精活性成分 4 个, 枸杞子活性成分 42 个, 砂仁活性成分 35 个, 莲子活性成分 13 个, 佛手活性成分 2 个, 香橼活性成分 2 个, 山楂活性成分 28 个, 删除重复活性成分后共得到活性成分 334 个, 包括反式肉桂酸、胡萝卜素、橙皮甙和谷甾醇等。得到马齿苋成分作用靶点 472 个, 沙棘成分作用靶点 191 个, 党参成分作用靶点 919 个, 黄芪成分作用靶点 425 个, 山药成分作用靶点 302 个, 白扁豆成分作用靶点 74 个, 鸡内金成分作用靶点 315 个, 薏苡仁成分作用靶点 164 个, 茯苓成分作用靶点 311 个, 大枣成分作用靶点 742 个, 甘草成分作用靶点 495 个, 黄精成分作用靶点 215 个, 枸杞子成分作用靶点 858 个, 砂仁成分作用靶点 542 个, 莲子成分作用靶点 96 个, 佛手成分作用靶点 110 个, 香橼成分作用靶点 96 个, 山楂成分作用靶点 339 个, 删除重复靶点共得到靶点 2168 个。

2.2 结直肠癌相关靶点 从 TCGA 及 OMIM 中分别获得结直肠癌相关基因 575 个和 168 个。从 GeneCards 数据库获得结直肠癌相关靶点 10405 个, Relevance score 最大值 237.81, 最小值 0.02, 取 Relevance score 大于 2 次中位数 (5.25) 部分, 筛选后得到 2601 个相关靶点。将筛选后基因一并纳入并进行重复值筛选, 整合后得到 2856 个相关靶点。使用 R 语言对调脾安肠方相关靶点

和结直肠癌相关靶点取交集得到 636 个基因, 并作韦恩图, 见图 1。

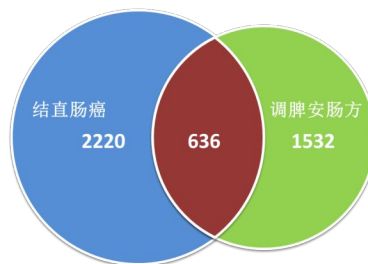


图1 药物靶点与疾病靶点韦恩图

2.3 调脾安肠方-结直肠癌靶点 PPI 网络 将 636 个交集靶点上传至 STRING 在线数据库, 获得交集靶点 PPI 网络, 共计 635 个节点, 17 978 条边, 平均节点度 56.6, 平均局部聚类系数 0.48, 预期边数值 8405。将 STRING 在线数据库分析结果输出为 TSV 格式并导入 Cytoscape v. 3. 9. 0 进行可视化, 利用 CytoNCA 插件进行拓扑分析, 选择 DC 值大于 2 倍中位数 (38×2) 的靶点共计 152 个构建子网络, 再次利用 cytoNCA 插件对此子网络进行拓扑分析, 选择 BC 值大于中位数 (42) 的共计 75 个靶点进行子网络核心靶点图的构建, 见图 2。节点越大, 颜色越深, 表明该基因的 DC 值越大, 在所有交集靶点中越处于核心位置。其中较关键的靶点有蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT1)、肿瘤蛋白 53 (tumor protein 53, TP53)、Jun 原癌基因 (jun proto-oncogene, JUN)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、β-连环蛋白 (catenin beta 1, CTNNB1)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、骨髓细胞瘤癌基因 (myelocytomatosis oncogene, MYC)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 和胰岛素 (insulin, INS) 等。

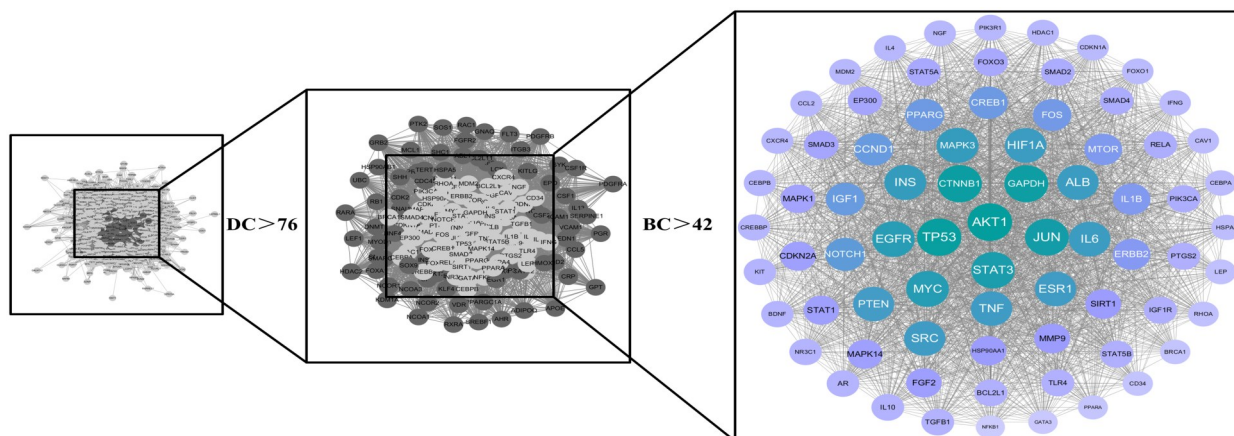


图2 子网络核心靶点图

2.4 GO与KEGG富集分析 对75个核心靶点的富集结果进行可视化。调脾安肠方干预结直肠癌癌涉及生物学过程的转录因子结合、RNA聚合酶II特异性转录激活因子活性、转录激活因子活性、泛素样蛋白连接酶结合、细胞因子受体结合等；主要通路包括磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)/AKT、人类巨细胞病毒感染、癌症中的微小RNA、脂质和动脉粥样硬化、辅助性T细胞(T helper cell,Th)17细胞分化、细胞衰老、志贺氏菌病、沙门氏菌感染、程序性死亡配体1(programmed cell death ligand 1,PD-L1)在肿瘤中的表达及程序性死亡受体1(programmed cell death protein 1,PD-1)检查点、EGFR酪氨酸激酶抑制剂耐药、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)、大鼠肉瘤原癌基因(rat sarcoma,RAS)等信号通路。见图3—4。

2.5 调脾安肠方成分-结直肠癌靶点-通路网络 运用CytoScape v. 3.9.0构建ClusterProfiler程序包运行得到的KEGG中P值<0.05且与结直肠癌密切相关的通路的“调脾安肠方成分-结直肠癌靶点-通路”网络图,见图5。图中箭标节点代表通路,圆形节点代表活性成分,矩形节点代

表靶点,其中矩形节点越大,代表此节点越重要。

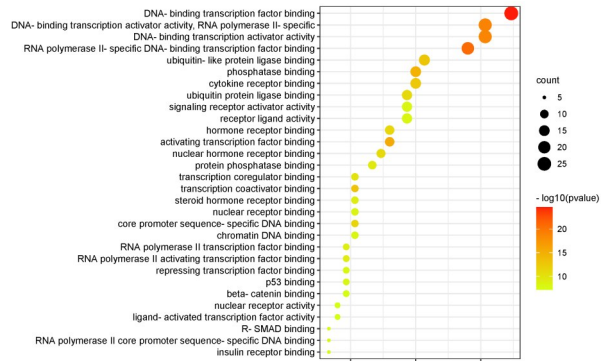


图3 GO富集分析

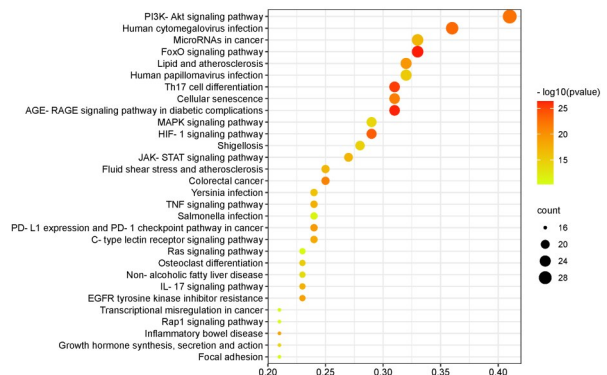


图4 KEGG富集分析

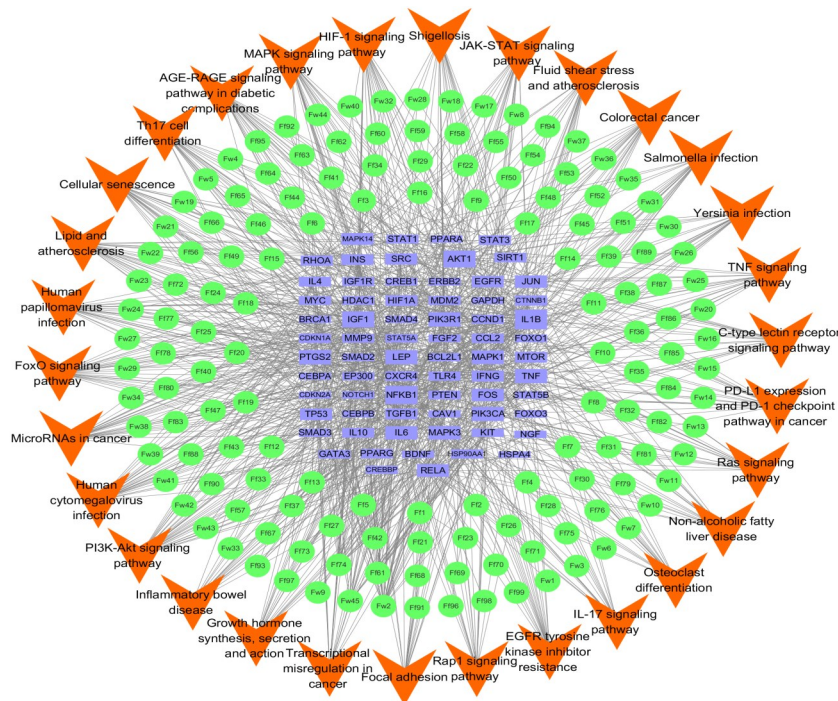


图5 “成分-靶点-通路”网络图

通过 CytoScape v. 3.9.0 内置 Network-Analyzer 分析调脾安肠方干预结直肠癌靶点网络拓扑学参数Dgree 和 Betweenness,联合PPI核心

靶点筛选及文献检索,最终得到的核心靶点为白细胞介素 1β(interleukin-1B, IL-1β)、核因子 kappa B(nuclear factor,NF-KB)1、AKT1、胰岛素

样生长因子1(insulin like growth factor 1, IGF1)、PI3KR1、前列腺素内过氧化物合酶(prostaglandin-endoperoxide synthase,PTGS) 2、PI3KCA、TNF、瘦素、MAPK1等,见表1。核心作用成分为白桦脂醇、左旋香芹酮、吉马酮、右旋香芹酮、烟酸、维生素E、四氢巴马丁、反式肉桂酸等。见表2。

表1 调脾安肠方核心靶点

核心靶点	连接度	介度	紧密度
IL-1 β	47	0.14693799	0.42086957
NFKB1	42	0.14785495	0.42233857
AKT1	37	0.09651776	0.41086587
IGF1	34	0.05327506	0.36611195
PIK3R1	29	0.02001486	0.40400668
PTGS2	29	0.13698003	0.37636081
PIK3CA	28	0.01634041	0.40266223
TNF	28	0.04559448	0.40000000
LEP	28	0.01613671	0.32746955
MAPK1	27	0.01546230	0.39868204

表2 调脾安肠方核心成分

编号	核心成分	连接度	介度	紧密度
Fw2	白桦脂醇	34	0.04148964	0.36778116
Ff61	左旋香芹酮	18	0.01545145	0.34084507
Ff74	吉马酮	18	0.01545145	0.34084507
Fw45	右旋香芹酮	18	0.01545145	0.34084507
Ff42	烟酸	14	0.02284980	0.37116564
Ff5	维生素E	9	0.00255221	0.31025641
Ff13	四氢巴马丁	8	0.01776200	0.36011905
Ff12	反式肉桂酸	6	0.00296070	0.33060109

2.6 分子对接 将结合活性较高组合中的维生素E-MAPK1(PDBID:7NR9)、白桦脂醇-MAPK1、吉马酮-TNF(PDBID:6CGI)、右旋香芹酮-AKT1(PDBID:2F7Z)、四氢巴马丁-AKT1和反式肉桂酸-AKT1进行分子对接模式图展示,见图6。3D模式图显示维生素E与MAPK1在甲硫氨酸108(methionine 108, MET-108)位点形成氢键,白桦脂醇与MAPK1在赖氨酸151(lysine 151, LYS-151)位点形成氢键,吉马酮与TNF在LYS-118位点形成氢键,右旋香芹酮与AKT1在L-苏氨酸183(L-threonine 183, THR-183)位点形成氢键,四氢巴马丁与AKT1在天冬氨酸-184(aspartic acid 184, ASP-184)和丙氨酸21(alanine 21, ALA-21)位点形成氢键,反式肉桂酸与AKT1在天冬酰胺171(asparagine-171, ASN-171)、ASP-184和LYS-72位点形成氢键。2D模式图显示各成分均与对接靶点形成了数个疏水作用力。在80组分子对接结果热图中, Docking Score^[7]大于4.25者占96.3%,表示对接复合物可能存在结合能力;大于5.0者占78.0%,表示对接复合物稳定性较好;大于7.0者占22.5%,表示对接复合物稳定性极好。对热图数值分为纵横进行求和,可知与各成分 Docking Score总和最高(-56.8)的靶点是AKT1,与各靶点 Docking Score总和最高(-78.2)的成分是白桦脂醇,二者可能在调脾安肠方治疗结直肠癌中发挥重要作用,见图7。

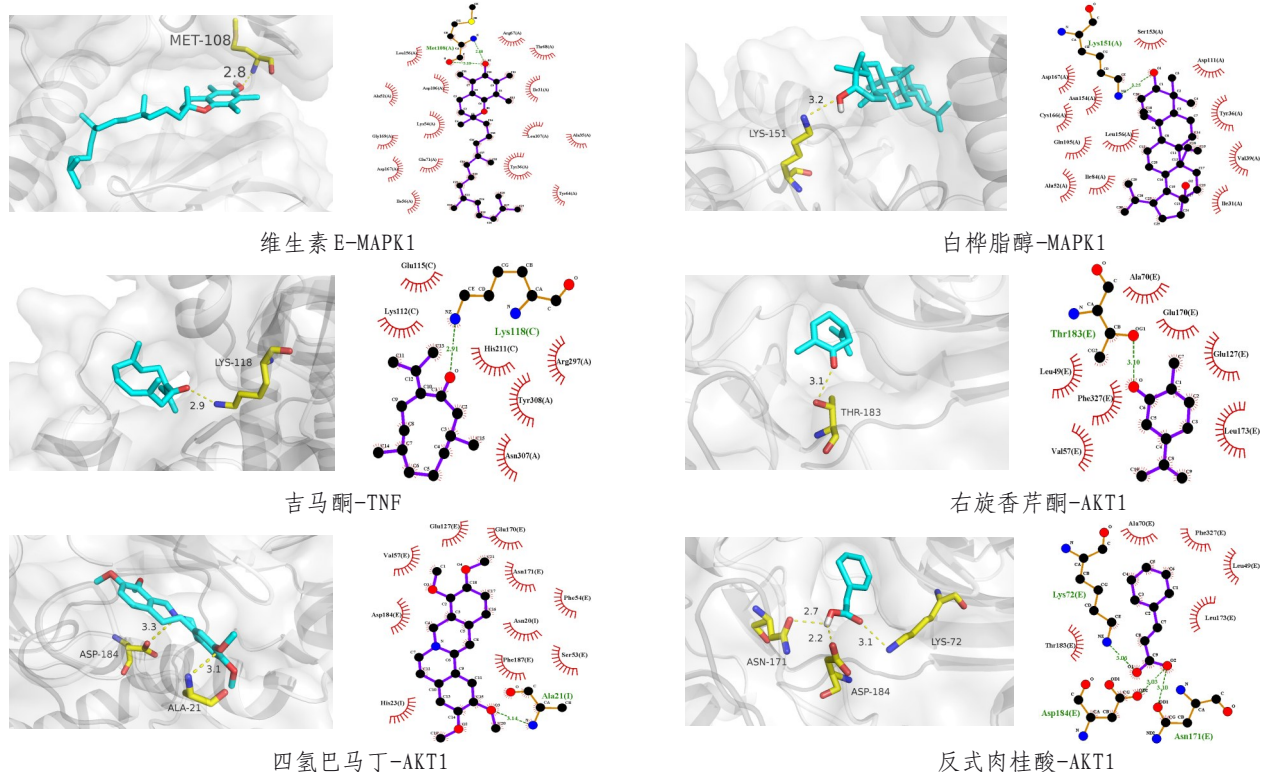


图6 分子对接模式图

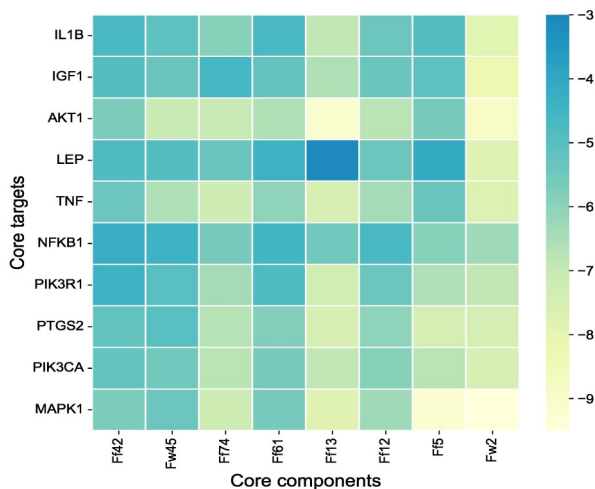


图7 80组分子对接结果热图

3 讨论

本研究结果显示,调脾安肠方的核心靶点中与活性成分结合度较高的靶点有 AKT1、IL-1 β 、TNF、MAPK1、PTGS2 和 IGF1 等。AKT1 编码 AKT 中的亚型 AKT1,是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,AKT1 过表达会抑制结直肠癌细胞凋亡,促进炎症细胞浸润和肿瘤血管生成,与其相关的整合素 β_1 (integrin β_1 , CD29)/黏附激酶 (focal adhesion kinases, FAK)/PI3K/AKT1 通路是阻碍肠癌细胞凋亡的关键决定因素^[8]。慢性炎症已被确定为癌症发展和进展的主要风险因素,IL-1 β 能减少结肠炎相关模型肿瘤负荷和侵袭^[9],高 IL-1 β 活性与某些人种结直肠癌风险增加有关^[10]。TNF 编码 TNF- α 在刺激肿瘤增殖方面发挥重要作用,可促进结直肠癌肿瘤迁移和侵袭,与 IL-6 联合可进一步激活信号传导及转录激活蛋白 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 和 NF- κ B,进而加速结直肠癌进展^[11]。MAPK1 编码丝裂原活化蛋白激酶 1 是细胞外信号调节激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 家族的一员 (ERK2),是 Raf 蛋白激酶 (Raf protein kinase, Raf)/丝裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase, MEK)/ERK 通路的关键蛋白,参与多种细胞过程,如增殖、分化、转录调控和发育^[12],近年来有通过抑制 MAPK1 以抑制结直肠癌细胞生长和转移^[13]的相关报道。PTGS2 编码环氧合酶 2 (COX-2) 是血管生成、炎症和癌变的重要调节剂,能调节体内前列腺素 E2 生成,前列腺素 E2 可促进结直肠癌进展^[14],而 COX-2 抑制剂如 NS398 可抑制结直肠癌细胞增殖和侵袭^[15]。IGF1 编码胰岛素样生长因子 1 具有胰岛素类似的结构和功能,能诱导血管

内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的产生从而促进血管生成,促进腺瘤性息肉的生长和恶性转化^[16],在特定患者中还与较差的预后相关^[17]。

调脾安肠方的核心靶点中与活性成分结合度较高的成分有白桦脂醇、维生素 E、右旋香芹酮、吉马酮、反式肉桂酸、四氢巴马丁。白桦脂醇是一种三萜,对多种癌细胞系具有抗癌特性,在体外实验中能诱导结直肠癌细胞凋亡,其能通过单磷酸腺苷 (adenosine 5'-monophosphate, AMP) 依赖的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 和 PI3K/AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路阻碍转移性结直肠癌的细胞周期并诱导自噬^[18]。维生素 E 是常见的抗氧化剂,结直肠癌的发生与较低浓度的血清维生素 E 相关,近年来有多项针对结直肠癌风险与口服补充维生素的荟萃分析,相关结果显示结肠癌风险与维生素 E 的补充呈负相关^[19],有研究表明,短期膳食补充高剂量维生素 E 可增加晚期结直肠癌患者自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK) 的杀伤活性^[20]。香芹酮是一种膳食单萜,被认为是一种无毒的天然抗肿瘤药物,能抑制癌细胞增殖,并在许多癌细胞系中引起细胞毒性,但对健康细胞的毒性很小^[21],右旋香芹酮在体内外实验中表现出改善溃疡性结肠炎的潜在效果^[22],能有效预防 1,2-二甲氨基胍诱导的结肠息肉、畸形性隐窝病灶和结肠癌^[23]。吉马酮是一种萜类化合物,能诱导细胞周期阻滞,促进细胞凋亡,具有广泛的抗癌活性,已报道其在胃癌^[24]等消化系统实体肿瘤的细胞及动物实验中的显著抗癌活性;反式肉桂酸不仅是来自植物的天然成分,也是人体内的一种内源性物质,主要存在于结肠中,是营养多酚经肠道微生物作用产生的代谢物之一^[25],已有研究表明,其可能通过抑制组蛋白脱乙酰酶对裸鼠中的结肠癌异种移植瘤产生抑制作用^[26],在细胞水平能减少 HT-29 结直肠癌细胞中肿瘤干细胞样细胞相关标志物表达^[27]。四氢巴马丁通过选择性抑制转运体介导的摄取来减少结直肠癌常用化疗药奥沙利铂在背根神经节和线粒体的蓄积,从而减轻外周神经毒性而不削弱奥沙利铂的抗肿瘤效应^[28],且其通过抑制 NF- κ B 和 MAPK 通路抑制破骨细胞生长的作用可能在临床对预防结直肠癌骨转移能产生积极作用^[29]。

GO 富集分析结果显示,调脾安肠方对酶、蛋白质、DNA、转录因子、转录共激活因子、类固醇激素受体等均具有一定结合活性,作用位点包括胞

外间隙、细胞表面、质膜、胞浆、核质和核染色质等众多区域,表明调脾安肠方作用广泛,可能具有多靶点、多层次的协同抗癌作用。调脾安肠方还对基因转录和表达、细胞凋亡、细胞增殖等具有双向调控作用,目前研究者在分子层面研究表明某些中药在脾胃病和肿瘤治疗中体现的双向调节机制可能与其对平滑肌肌球蛋白功能及细胞自噬的调控^[30]有关。中医认为癌症患者多为“正虚邪盛”状态,治法应“攻补兼施”,因而调脾安肠方所展现的双向调控作用可能是本方“攻补兼施”的现代药理学机制之一,有待深入研究以进一步确认。

KEGG 富集分析结果显示调脾安肠方涉及许多与结直肠癌发生发展密切相关的通路。PI3K/AKT 信号通路将数个通路沟通和联系在一起,RAS 信号通路和红细胞原癌基因(erythroid oncogene B, ErbB)信号通路等位于 PI3K/AKT 信号通路上游,能将其激活,而位于其下游通路中具有抑制肿瘤功能的通路如叉头框蛋白 0(forkhead box 0, FOXO)信号通路、细胞凋亡、p53 信号通路等能被其抑制,其余具有促进肿瘤增殖功能的通路则被其激活。对肿瘤耐药的回顾提示使用多种机制联合治疗(常规化疗药和天然化合物)能增强疗效并减缓耐药出现,其机制可能与耐受性良好的天然物质能代替部分经典化学治疗剂的剂量以减毒增效有关^[31]。

PI3K/AKT 信号通路的异常激活能阻碍细胞凋亡、刺激细胞生长、调节细胞代谢,是导致结直肠癌发生的重要通路之一,目前临床常用的西妥昔单抗通过抑制 EGFR 这一位于 PI3K/AKT 信号通路上游的靶点来治疗转移性结直肠癌^[32],多项 PI3K/AKT 抑制剂也应用于结直肠癌患者中的临床试验中^[33]。RAS 信号通路中的 Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(kirsten ratsarcoma viral oncogene homolog, KRAS)突变是结直肠癌形成的早期事件, KRAS 或神经母细胞瘤 Ras 癌基因(neuroblastoma ras oncogene, NRAS)发生突变的肿瘤基本上对西妥昔单抗等 EGFR 药物治疗不敏感^[34], NCCN 指南和 CSCO 指南均建议已知 KRAS 或 NRAS 突变的患者不应继续使用西妥昔单抗等 EGFR 药物治疗^[35-36]; ErbB 信号通路中 ERBB2(又称 HER2)信号在结直肠癌中尤为重要, ERBB2 信号的激活导致结直肠癌患者对西妥昔单抗产生耐药性^[37],在 RAS 和 BRAF 野生型疾病患者中, ERBB2 扩增率约 14%^[38], NCCN 指南和 CSCO 指南均建议对除已知具有 KRAS/NRAS 或 BRAF 突变以外的转移性结直肠癌患者进行 ERBB2 基因的相关检测以指导曲

妥珠单抗等相关药物的使用^[35-36]; PD-L1 在肿瘤中的表达及 PD-1 检查点通路与免疫检查点抑制剂密切相关,这是一种不同于细胞毒性药物的治疗手段,能恢复机体免疫系统对肿瘤细胞的识别和攻击, NCCN 指南和 CSCO 指南均建议将免疫检查点抑制剂如帕博利珠单抗和纳武利尤单抗等用于错配修复基因缺陷或微卫星高度不稳定(dMMR/MSI-H)的转移性结直肠癌患者的一线治疗^[35-36]。T 细胞受体信号通路和 Th17 细胞分化通路的富集表明调脾安肠方能对 T 细胞产生影响, T 细胞的增殖和分化在炎症、免疫及恶性肿瘤的发生发展中十分重要, Treg 细胞和 Th1 辅助 T 细胞亚群的不平衡会导致癌症的发展^[39],而 Th17 细胞浸润被认为可促进结直肠癌发生,并且与结直肠癌患者无病生存期降低相关^[40],此外,结直肠肿瘤周围有大量 T 细胞浸润,与此相关的免疫评分被认为与结直肠癌预后显著相关^[41]。

众所周知,放化疗在抑瘤的同时对正常细胞和组织也具有杀伤性,且手术及免疫治疗也常出现各种不良反应,从中医角度来说即对患者正气克伐较严重。调脾安肠方是针对结直肠癌患者临床常见证候及现代医学治疗后的显著不良反应组方而成,方中 18 味中药均为药食同源物质^[42-43],可见调脾安肠方性质平和而少毒,因此适用于各阶段接受各种治疗的结直肠癌的辅助治疗。天然来源的活性抗癌物质已屡见不鲜,如长春花生物碱^[44]、紫杉醇^[45]、依托泊苷^[46]等均已广泛应用于临床,调脾安肠方核心成分亦大多展现出对肿瘤细胞增殖和转移的直接抑制活性,可见调脾安肠方可能是一种兼具良好耐受性和抗癌活性的传统中药方剂。

KEGG 富集分析结果中除与细胞增殖和凋亡密切相关的通路外,还与免疫、脂质代谢和肠道菌群相关。免疫失调与癌症发生发展的关系已得到广泛公认,血脂异常^[47]和肠道微生物菌群失调^[48]与结直肠癌的发生关系也十分紧密,而在结直肠癌中血脂异常本身就是肠道微生物菌群失调的先导因素,而中医健脾法中升清降浊和平衡气机的理念在恢复免疫及调节血脂异常和肠道微生物菌群失调中多有阐释。调脾安肠方核心成分中的四氢巴马丁和反式肉桂酸等^[49-50]都展现出对血脂异常的良好调节效果,且作为肠道微生物重要代谢产物之一的反式肉桂酸与各核心靶点均展现出一定结合活性。因此,对免疫失调、血脂异常和肠道微生物菌群的调控可能使结直肠癌患者临床获益,本研究预测这可能是调脾安肠方治疗结直肠

癌的重要机制,值得后续进一步研究。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249.
- [2] 王韬, 费建东, 聂双发, 等. 薏苡仁油联合5-FU对结肠癌HCT-116细胞株增殖、凋亡的影响[J]. *西部中医药*, 2024, 37(1):9-12.
- [3] 何亚琳, 程志强. 调脾安肠方联合XELOX方案治疗结直肠癌术后患者的临床研究[J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(1):437-441.
- [4] 邹孟龙, 黄晓燕, 陈雅璐, 等. 基于CNKI的中医药领域网络药理学知识图谱分析[J]. *西部中医药*, 2024, 37(2):59-64.
- [5] World Federation of Chinese Medicine Societies. 网络药理学评价方法指南[J]. *世界中医药*, 2021, 16(4):527-532.
- [6] YU G, WANG L G, HAN Y, et al. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. *OMICS*, 2012, 16(5):284-287.
- [7] HSIN K Y, GHOSH S, KITANO H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12):83922.
- [8] DUFOUR G, DEMERS M J, GAGNÉ D, et al. Human intestinal epithelial cell survival and anoikis. Differentiation state-distinct regulation and roles of protein kinase B/Akt isoforms[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(42):44113-44122.
- [9] WANG Y, WANG K, HAN G C, et al. Neutrophil infiltration favors colitis-associated tumorigenesis by activating the interleukin-1(IL-1)/IL-6 axis[J]. *Mucosal Immunol*, 2014, 7(5):1106-1115.
- [10] ANDERSEN V, HOLST R, KOPP T I, et al. Interactions between diet, lifestyle and IL10, IL1B, and PTGS2/COX-2 gene polymorphisms in relation to risk of colorectal cancer in a prospective Danish case-cohort study[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10):78366.
- [11] DE SIMONE V, FRANZÈ E, RONCHETTI G, et al. Th17-type cytokines, IL-6 and TNF- α synergistically activate STAT3 and NF- κ B to promote colorectal cancer cell growth[J]. *Oncogene*, 2015, 34(27):3493-3503.
- [12] FANG J Y, RICHARDSON B C. The MAPK signalling pathways and colorectal cancer[J]. *Lancet Oncol*, 2005, 6(5):322-327.
- [13] AI X, WU Y, ZHANG W, et al. Targeting the ERK pathway reduces liver metastasis of Smad4-inactivated colorectal cancer[J]. *Cancer Biol Ther*, 2013, 14(11):1059-1067.
- [14] FUJINO H, SEIRA N, KURATA N, et al. Prostaglandin E2-stimulated prostanoid EP4 receptors induce prolonged *de novo* prostaglandin E2 synthesis through biphasic phosphorylation of extracellular signal-regulated kinases mediated by activation of protein kinase A in HCA-7 human colon cancer cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 768:149-159.
- [15] ZHU Y, ZHU M, LANCE P. Stromal COX-2 signaling activated by deoxycholic acid mediates proliferation and invasiveness of colorectal epithelial cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 425(3):607-612.
- [16] ZHANG R, XU G L, LI Y, et al. The role of insulin-like growth factor 1 and its receptor in the formation and development of colorectal carcinoma[J]. *J Int Med Res*, 2013, 41(4):1228-1235.
- [17] SCARTOZZI M, MANDOLESI A, GIAMPIERI R, et al. Insulin-like growth factor 1 expression correlates with clinical outcome in K-RAS wild type colorectal cancer patients treated with cetuximab and irinotecan[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(8):1941-1947.
- [18] HAN Y H, MUN J G, JEON H D, et al. Betulin inhibits lung metastasis by inducing cell cycle arrest, autophagy, and apoptosis of metastatic colorectal cancer cells[J]. *Nutrients*, 2019, 12(1):66.
- [19] LIU Y, YU Q, ZHU Z, et al. Vitamin and multiple-vitamin supplement intake and incidence of colorectal cancer: a meta-analysis of cohort studies[J]. *Med Oncol*, 2014, 32(1):434.
- [20] HANSON M G V, OZENCI V, CARLSTEN M C V, et al. A short-term dietary supplementation with high doses of vitamin E increases NK cell cytolytic activity in advanced colorectal cancer patients[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(7):973-984.
- [21] JAAFARI A, TILAOUI M, MOUSE H A, et al. Comparative study of the antitumor effect of natural monoterpenes: relationship to cell cycle analysis[J]. *Rev Bras Farmacogn*, 2012, 22(3):534-540.
- [22] ZHU X, WANG G, WU S, et al. Protective effect of D-carvone against dextran sulfate sodium induced ulcerative colitis in Balb/c mice and LPS induced RAW cells via the inhibition of COX-2 and TNF- α [J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2020, 39(3):235-245.
- [23] VINOTHKUMAR R, SUDHA M, VISWANATHAN P, et al. Modulating effect of d-carvone on 1,2-dimethylhydrazine-induced pre-neoplastic lesions, oxidative stress and biotransforming enzymes, in an experimental model of rat colon carcinogenesis[J]. *Cell Prolif*, 2013, 46(6):705-720.
- [24] WU L, WANG L, TIAN X, et al. Germacrone exerts anti-cancer effects on gastric cancer through induction of cell cycle arrest and promotion of apoptosis[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1):21.
- [25] JENNER A M, RAFTER J, HALLIWELL B. Human fecal water content of phenolics: the extent of colonic exposure to aromatic compounds[J]. *Free Radic Biol Med*, 2005, 38(6):763-772.

- [26] ZHU B, SHANG B, LI Y, et al. Inhibition of histone deacetylases by trans-cinnamic acid and its anti-tumor effect against colon cancer xenografts in athymic mice [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(5): 4159-4166.
- [27] SOLTANIAN S, RIAHIRAD H, PABARJA A, et al. Effect of cinnamic acid and FOLFOX in diminishing side population and downregulating cancer stem cell markers in colon cancer cell line HT-29 [J]. *Daru*, 2018, 26(1): 19-29.
- [28] YI Y, LI L, SONG F, et al. L-tetrahydropalmatine reduces oxaliplatin accumulation in the dorsal root ganglion and mitochondria through selectively inhibiting the transporter-mediated uptake thereby attenuates peripheral neurotoxicity [J]. *Toxicology*, 2021, 459: 152853.
- [29] ZHI X, WANG L, CHEN H, et al. L-tetrahydropalmatine suppresses osteoclastogenesis *in vivo* and *in vitro* via blocking RANK-TRAF6 interactions and inhibiting NF- κ B and MAPK pathways [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1): 785-798.
- [30] 范修琦, 陈玉龙, 吴耀松, 等. 中医药调控自噬防治肿瘤[J]. *中医学报*, 2019, 34(12): 2542-2548.
- [31] REDONDO-BLANCO S, FERNÁNDEZ J, GUTIÉRREZ-DEL-RÍO I, et al. New insights toward colorectal cancer chemotherapy using natural bioactive compounds [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 109.
- [32] JONKER D J, O'CALLAGHAN C J, KARAPETIS C S, et al. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(20): 2040-2048.
- [33] GOODWIN R, JONKER D, CHEN E, et al. A phase Ib study of a PI3Kinase inhibitor BKM120 in combination with panitumumab in patients with KRAS wild-type advanced colorectal cancer [J]. *Invest New Drugs*, 2020, 38(4): 1077-1084.
- [34] AMADO R G, WOLF M, PEETERS M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(10): 1626-1634.
- [35] BENSON A B, VENOOK A P, AL-HAWARY M M, et al. Colon cancer, version 2. 2021, NCCN clinical practice guidelines in oncology [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2021, 19(3): 329-359.
- [36] WENG S, YUAN Y, WANG X, et al. Updates in version 2020 of CSCO guidelines for colorectal cancer from version 2019 [J]. *Chin J Cancer Res*, 2020, 32(3): 403-407.
- [37] YONESAKA K, ZEJNULLAHU K, OKAMOTO I, et al. Activation of ERBB2 signaling causes resistance to the EGFR-directed therapeutic antibody cetuximab [J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(99): 86.
- [38] RAGHAV K P S, OVERMAN M J, YU R, et al. HER2 amplification as a negative predictive biomarker for anti-epidermal growth factor receptor antibody therapy in metastatic colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(suppl 15): 3517.
- [39] BETTELLI E, CARRIER Y, GAO W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells [J]. *Nature*, 2006, 441(7090): 235-238.
- [40] TOSOLINI M, KIRILOVSKY A, MLECNIK B, et al. Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, Th2, Treg, Th17) in patients with colorectal cancer [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(4): 1263-1271.
- [41] MLECNIK B, BINDEA G, ANGELL H K, et al. Integrative analyses of colorectal cancer show immunoscore is a stronger predictor of patient survival than microsatellite instability [J]. *Immunity*, 2016, 44(3): 698-711.
- [42] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 关于党参等9种新增按照传统既是食品又是中药材的物质公告 [EB/OL]. (2023-11-17) [2024-06-20]. <https://www.nhc.gov.cn/sps/c100088/202311/5b062dd13fe646198b56c7d76a99aab4.shtml>.
- [43] 国家卫生计生委. 卫计委公布最新食药两用中药名单 [J]. *中医临床研究*, 2017, 9(24): 11-14.
- [44] MOUDI M, GO R, YIEN C Y S, et al. *Vinca* alkaloids [J]. *Int J Prev Med*, 2013, 4(11): 1231-1235.
- [45] WANI M C, TAYLOR H L, WALL M E, et al. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia* [J]. *J Am Chem Soc*, 1971, 93(9): 2325-2327.
- [46] VOGELZANG N J, RAGHAVAN D, KENNEDY B J. VP-16-213 (etoposide): the mandrake root from Issyk-Kul [J]. *Am J Med*, 1982, 72(1): 136-144.
- [47] SHEN Y, WANG C, REN Y, et al. A comprehensive look at the role of hyperlipidemia in promoting colorectal cancer liver metastasis [J]. *J Cancer*, 2018, 9(16): 2981-2986.
- [48] TILG H, ADOLPH T E, GERNER R R, et al. The intestinal microbiota in colorectal cancer [J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(6): 954-964.
- [49] SUN C, CHEN Z, WANG H, et al. Tetrahydropalmatine prevents high-fat diet-induced hyperlipidemia in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 6564-6572.
- [50] MNAFGUI K, DERBALI A, SAYADI S, et al. Anti-obesity and cardioprotective effects of cinnamic acid in high fat diet-induced obese rats [J]. *J Food Sci Technol*, 2015, 52(7): 4369-4377.

收稿日期: 2025-05-23

*基金项目: 北京市自然科学基金(7212194); 中央高水平医院临床科研业务费资助项目(2022-NHLHCRF-LX-02-0109)。

作者简介: 张津铖(1999—), 男, 在读博士研究生。研究方向: 中西医结合防治肿瘤疾病。

△通讯作者: 程志强(1968—), 男, 博士学位, 主任医师。研究方向: 中西医结合防治肿瘤疾病。Email: zhiqiacheng@163.com。