

# 基于网络药理学及细胞实验 探析乌附理中汤治疗胃癌的作用机制\*

马 祺,杨斌锋,乔玉洁,黄邦荣<sup>△</sup>

甘肃省中医院,甘肃 兰州 730050

**[摘要]** 目的:利用网络药理学和细胞实验探究乌附理中汤治疗胃癌的作用机制。方法:通过网络药理学预测乌附理中汤的有效成分,核心靶点和信号通路,选用胃癌细胞HGC27细胞、MKN28细胞通过CCK-8实验、RT-qPCR实验、Western blot实验、细胞划痕实验验证网络药理学预测的主要靶点以探究乌附理中汤治疗胃癌的作用机制。结果:乌附理中汤共含活性成分198个,对应靶点884个;从GEO数据库中检索到胃癌相关差异基因919个,获取交集靶点61个,其中MMP9、OLR1、PTGS2、MMP12、IL-6、SELE、MMP7、NOX4等为核心靶点;富集分析显示交集靶点主要富集在PI3K/AKT、AGE-RAGE、TNF、cAMP、NF- $\kappa$ B、IL-17、cGMP-PKG等信号通路。CCK-8、划痕实验提示,乌附理中汤能明显抑制HGC27细胞和MKN28细胞的增殖、迁移及侵袭能力( $P<0.05$ )。RT-qPCR实验结果表明,乌附理中汤能降低SLUG、MMP9、Vimentin、VEGF mRNA表达水平( $P<0.05$ )。Western blot实验结果表明乌附理中汤能降低p-AKT、SLUG、MMP9、Vimentin、VEGF蛋白表达水平( $P<0.05$ )。结论:乌附理中汤通过抑制AKT/GSK-3 $\beta$ /Snail(Slug)信号通路达到抑制胃癌的目的。

**[关键词]** 胃癌;乌附理中汤;网络药理学;AKT/GSK-3 $\beta$ /Snail(Slug)信号通路

**[中图分类号]** R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)04-0033-09

## Exploration into the Mechanism of Wufu Lizhong Tang in the Treatment of Gastric Cancer Based on Network Pharmacology and Cellular Experiment

MA Qi, YANG Bin Feng, QIAO Yu jie, HUANG Bang rong<sup>△</sup>

Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China

**Abstract** Objective: To discuss the mechanism of Wufu Lizhong Tang in the treatment of gastric cancer using network pharmacology and cellular experiment. Methods: The active ingredients, core targets and signaling pathways of the decoction were predicted via network pharmacology, gastric cancer cells HGC27 cells, MKN28 cells were applied to verify the main targets predicted by network pharmacology via CCK-8 experiment, RT-qPCR experiment, Western blot experiment and cellular scratch wound assay, so as to survey the mechanism of Wufu Lizhong Tang in the treatment of gastric cancer. Results: The decoction contained 198 active ingredients and 884 corresponding targets; A total of 919 differential genes associated with gastric cancer were retrieved from GEO database, and 61 intersecting targets were obtained, among them, MMP9, OLR1, PTGS2, MMP12, IL-6, SELE, MMP7 and NOX4 were the core targets; Enrichment analysis revealed that the intersecting targets were mainly enriched in PI3K/AKT, AGE-RAGE, TNF, cAMP, NF- $\kappa$ B, IL-17 and cGMP-PKG. CCK-8 and cellular scratch wound assay suggested that the decoction could obviously restrain the proliferation, migration and invasion of HGC27 cells and MKN28 cells ( $P<0.05$ ). The results of RT-qPCR experiment demonstrated that the decoction could lower the expressions of SLUG, MMP9, Vimentin and VEGF mRNA ( $P<0.05$ ). The results of Western blot experiment showed that the decoction could reduce the levels of p-AKT, SLUG, MMP9, Vimentin and VEGF protein ( $P<0.05$ ). Conclusion: Wufu Lizhong Tang could inhibit gastric cancer through restraining AKT/GSK-3 $\beta$ /Snail(Slug) signaling pathway.

**Keywords** gastric cancer; Wufu Lizhong Tang; network pharmacology; AKT/GSK-3 $\beta$ /Snail(Slug) signaling pathway

胃癌严重影响人们的健康,是全球发病率排名第4的常见肿瘤,在肿瘤导致的死亡人数中排在第2位,每年新发病人超过950 000人,并且有约720 000人死于胃癌<sup>[1]</sup>。我国是一个胃癌发病率较高的国家,据报道<sup>[2]</sup>,我国胃癌发病率占全世界的44%,为全球第一,预计到2025年,将有

280 000例胃癌病例。

乌附理中汤为甘肃省名中医裴正学教授治疗胃癌之经验方<sup>[3]</sup>(药物组成:乌梅15 g,桂枝10 g,蜀椒5 g,附子10 g,人参6 g,炙甘草6 g,天花粉12 g,干姜5 g,山药30 g,山萸肉30 g,生地黄12 g)。此方由三方化裁而来。乌梅、桂枝、蜀椒、

附子、人参取乌梅丸之意,方中选用乌梅入厥阴肝经,以防土反侮木,补肝木之体;桂枝、蜀椒辛温暖中,又与干姜、人参相配寓大建中汤之意,共奏温阳祛寒,益气健脾之效;山药、山萸肉、生地黄取自六味地黄丸,又暗合“益水之源,以消阴翳”之旨。诸药合用,临床收效甚广。因此,本研究拟通过网络药理学与实验验证相结合的方法探讨乌附理中汤治疗胃癌的机制,为临床使用提供依据。

## 1 资料与方法

**1.1 GEO 基因芯片及差异表达基因的获取** 在高通量基因表达(gene expression omnibus, GEO)数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)中对胃癌相关基因进行检索。

**1.2 文献纳入标准** 1)样本包含人胃肿瘤和人体正常胃组织;2)样本量20例以上(胃癌组、对照组均在10例以上)。检索符合条件的基因芯片,利用limma程序包,以logFC绝对值 $>1$ , $P<0.05$ 为筛选条件,获取差异表达基因。

**1.3 乌附理中汤活性成分及对应靶标获取** 从中药系统药理学数据库和分析平台数据库(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP)(<http://tcmspw.com/tcmsp.php>)中分别以乌附理中汤中药名为关键词,选择“Herb Name”选项,检索其所有化学成分,并选择生物口服利用度(oral bioavailability,OB) $\geq 30\%$ ,类药性(drug-likeness,DL) $\geq 0.18$ 为其筛选条件,获得对应药物的主要化学成分,将上述获取的有效成分导入PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库和Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)网站,预测乌附理中汤的潜在作用靶点。

**1.4 交集靶点获取及药物-活性成分-交集靶点网络构建** 将“1.1”项中获取的胃癌差异基因与“1.2”项乌附理中汤预测靶点取交集,并利用Venn Diagram程序包绘制韦恩图;后提取交集靶点对应活性成分,利用Cytoscape 3.7.2软件构建“药物-活性成分-交集靶点”网络图。

**1.5 PPI 网络构建及基因本体(gene ontology, GO)、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** 将交集靶点导入STRING数据库(<http://string-db.org/>),限定物种为“Homo sapiens”,置信度为0.4,获取蛋白相互作用信息,利用Cytoscape 3.7.2软件构建PPI网络,利用并利用MCODE插件计算靶点MCODE score,获取

核心靶点并构建核心靶点互作网络。利用clusterProfiler包对交集靶标进行GO、KEGG富集分析。

## 2 细胞实验验证

**2.1 细胞株** HGC27细胞、MKN28培养基用RPMI 1640培养液(含10% FBS,100 U/mL青霉素,100  $\mu\text{g/mL}$ 链霉素),将细胞放置于37  $^{\circ}\text{C}$ ,饱和湿度,5%CO<sub>2</sub>恒温培养箱中培养,根据生长状况进行传代培养。

**2.2 药物及试剂** 乌附理中汤(乌梅10 g,附子6 g,桂枝10 g,花椒3 g,人参5 g,干姜6 g,甘草6 g,天花粉20 g,山药10 g,山萸肉30 g,生地黄12 g)由甘肃省中医院中药房提供,以上药材均经黄清杰副主任药师鉴定为正品。饮片加10倍量水常规煎煮,重复煎煮2次,所得药液混合、过滤、灭菌、蒸发、浓缩,使其终浓度为1 g/mL,置于-20  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。CCK-8试剂(尚唯生物公司,批号:CK001-01,DCM211111);反转录试剂盒(批号:11141ES60,H8203970);荧光定量试剂盒(批号:11202ES03,H6312080);ECL发光液(批号:36208-A/B);蛋白电泳Marker(批号:26616);Trizol Reagent 15596026(批号:424306);无菌无酶水(批号:R1600,20230304);BCA蛋白定量试剂盒(批号:20220910);高效RIPA裂解液(批号:20220927);青链霉素混合液(批号:P1400)均购自北京索莱宝科技有限公司;PVDF膜(Millipore公司,批号:IRVH00010);胎牛血清(ExCell/依科赛公司,批号:FSP500);胰蛋白酶(gibco公司,批号:25200056);DMEM/高糖(海克隆公司,批号:SH30022.01)。

**2.3 CCK-8 法检测细胞增殖活力** 细胞接种于96孔板中( $1\times 10^5$ /孔),置于培养箱37  $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO<sub>2</sub>的条件下培养,待细胞贴壁生长至85%后加入不同浓度药物,分别孵育24、48、72 h。于对应时间点取出培养板,向每孔加入10  $\mu\text{L}$ 的CCK 8溶液。于培养箱内孵育2 h。酶标仪测定450 nm处的吸光度值。利用GraphPad Prism 9.3.0软件,计算乌附理中汤对HGC27和MKN28细胞增殖的半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration,IC<sub>50</sub>)。

细胞增殖活力(%)=[A(加药)-A(空白)]/[A(正常)-A(空白)] $\times 100\%$ [A(加药):具有细胞、CCK-8溶液和药物溶液的孔的吸光度;A(空白):具有培养基和CCK-8溶液而没有细胞的孔的吸光度;A(正常):具有细胞、CCK-8溶液而没有药物溶液的孔的吸光度]

2.4 RT-qPCR 法检测 SLUG、MMP9、Vimentin、E-Ca、VEGF mRNA 表达 收集细胞样本,加入 500  $\mu$ L Total RNA Extraction Reagent 混匀,将样品超声破碎后在 4  $^{\circ}$ C 放置 30 min 以使核蛋白体完全解离。按照逆转录试剂盒合成 cDNA,随后进行

PCR 扩增反应,条件为 95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min,95  $^{\circ}$ C 变性 10 s,60  $^{\circ}$ C 退火 20 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 20 s,共 40 个循环。以 GAPDH 为内参,采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算目的基因 mRNA 相对表达量。引物信息见表 1。

表1 引物序列

基因(人类)	序列	长度	引物 ID
SLUG	F: GCTACCCAATGGCCTCTCTC	170	NM_003068.5
	R: CTTCAATGGCATGGGGGTCT		
E-Ca	F: GCTGGACCGAGAGAGTTTCC	156	NM_001317184.2
	R: TCAAAATCCAAGCCCGTG		
VEGF	F: GAAAGCGCAAGAAATCCCG	73	NM_001025366.3
	R: CTCCAGGGCATTAGACAGC		
MMP9	F: CGACGTCTTCCAGTACCGAG	239	NM_004994.3
	R: TCCAGAACAGAATACCACT		
Vimentin	F: GGACCAGCTAACCAACGACA	182	NM_003380.5
	R: GTTCAAGGTCAAGACGTGC		
GAPDH	F: GGAAGGAAATGAATGGGCAGC	148	NM_001256799.3
	R: TAGGAAAAGCATCACCCGGAG		

2.5 Western blot 法检测 AKT、p-AKT、GSK-3 $\beta$ 、p-GSK-3 $\beta$ 、SLUG、MMP9、Vimentin、E-Ca、VEGF 蛋白表达 用 RIPA 裂解液提取各组细胞总蛋白,使用 BCA 蛋白定量试剂盒进行定量,每组取等量蛋白样品进行 10%SDS-PAGE 凝胶电泳分离,随后将蛋白转移至 PVDF 膜,加入 5%脱脂奶粉溶液室温封闭 1.5 h,TBST 清洗后,加入一抗于 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜,次日加入相应的二抗,采用 Image J 软件分析各蛋白条带灰度值,以 GAPDH 作为内参。

2.6 划痕实验检测细胞迁移能力 将细胞均匀的铺到 6 孔板中,每孔加入约  $5\times 10^5$  个细胞,于 37  $^{\circ}$ C 培养箱中过夜培养。第二天用 PBS 洗 2~3 次,用 10  $\mu$ L 移液器枪头以直尺为媒介垂直划线,划出一条均匀的直线,用 PBS 洗细胞 3 次,除去漂浮的细胞,对照组加入无血清培养基,处理组加入含相应浓度药物培养基,通过显微镜拍照,记录 0 h 的各个分组的照片,之后放入 37  $^{\circ}$ C,5% CO<sub>2</sub> 培养箱,培养。通过显微镜分别拍照记录 12、24 h 伤口愈合图片,计算伤口愈合率。

伤口愈合率(%)=(0 h 划痕宽度-时间点划痕宽度)/0 h 划痕宽度 $\times$ 100%

2.7 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析;计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,满足正态分布时,两组间比较采用  $t$  检验或非参数检验,多组间比较采用方差分析; $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 胃癌差异基因获取 通过 GEO 数据库检索胃癌差异基因,选择编号为 GSE54129、GSE65801 的基因表达谱数据,其中 GSE54129 内含 132 个样本,胃癌组织样本 111 个,正常胃组织样本 21 个;GSE65801 内含 64 个样本,胃癌组织样本 32 个,正常胃组织样本 32 个,对芯片数据进行合并、归一化和校正后,共检测基因 17 350 个,较为完整的覆盖了人类基因组,以  $\log FC$  绝对值 $>1$ , $P<0.05$  为筛选条件,共获取 919 个差异表达基因,其中上调基因 437 个,下调基因 482 个。见图 1—2。

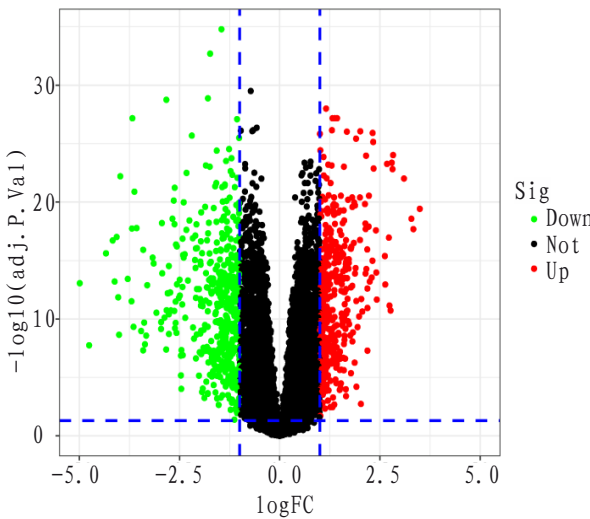


图1 胃癌差异基因火山图

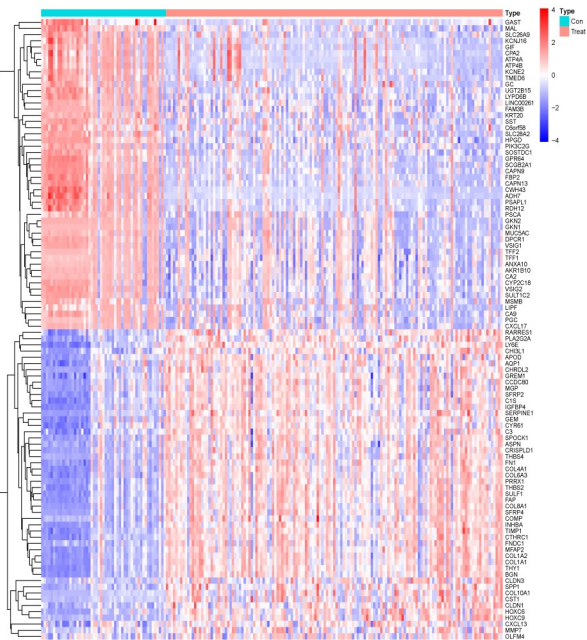


图2 胃癌差异基因热图

3.2 乌附理中汤成分及靶点信息 对乌附理中汤活性成分进行检索,并通过OB、DL进行筛选,得到乌梅活性成分8个,附子21个,桂枝7个,花椒5个,人参22个,干姜5个,甘草92个,天花粉2个,山药16个,山萸肉20个,生地黄2个。通过Swiss Target Prediction平台获得乌梅潜在作用蛋白靶点559个,附子873个,桂枝170个,花椒363个,人参1273个,干姜278个,甘草1530个,天花粉87个,山药656个,山萸肉816个,生地黄144个,经去重后共获得药物靶点884个。

3.3 交集靶点及药物-活性成分-交集靶点网络图构建 将乌附理中汤对应884个靶点与胃癌对

应919个差异表达基因取交集,共获取61个交集基因,见图3。提取交集基因对应药物活性成分,利用Cytoscape 3.7.2软件构建药物-活性成分-交集靶点网络图,见图4,网络共包含节点237个,边685条。根据Degree值,预测槲皮素、豆甾醇等为乌附理中汤主要成分,见表2。

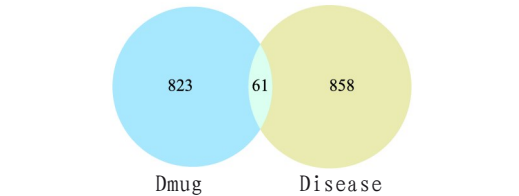


图3 胃癌相关靶点与乌附理中汤靶点交集韦恩图

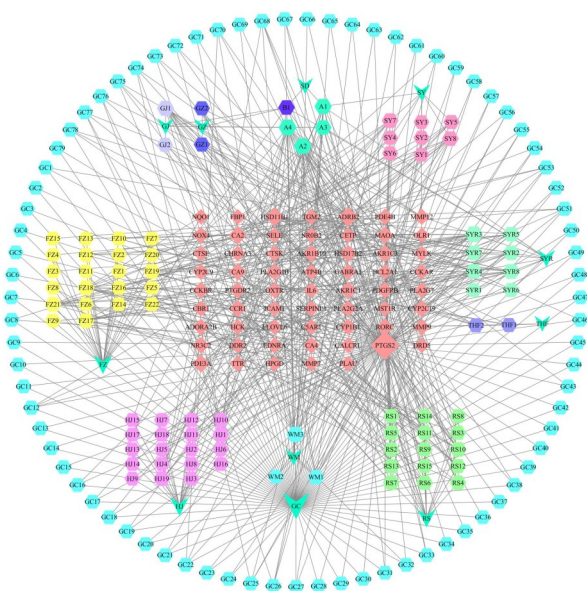


图4 药物-成分-交集基因网络图

表2 乌附理中汤主要成分

MOLID	名称	Drgee 值	紧密度
MOL005530	Hydroxygenkwanin	18	0.417
MOL000098	quercetin	18	0.408
MOL001040	(2R)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-10-one	16	0.320
MOL002514	Sexangularetin	13	0.392
MOL002398	Karanjin	13	0.405
MOL000449	Stigmasterol	13	0.316

3.4 基于STRING的PPI网络构建 利用STRING数据库构建核心靶标互作网络,置信度为0.4,得到交集靶点PPI网络,利用Cytoscape 3.7.2软件构建蛋白互作关系,并利用MCODE插件计算靶点MCODE score,以MCODE score=7为筛选标准,共获取11个核心靶点,见图5。核心靶标分别为OLR1、PTGS2、MMP9、MMP12、IL-6、SELE、ICAM1、

SERPINE1、MMP7、NOX4、PLAU。可见乌附理中汤是通过多靶点对胃癌起到治疗作用,体现了中药复方多成分、多靶点的作用特点。

3.5 GO、KEGG富集分析 GO富集分析结果显示:生物学过程主要富集在不饱和脂肪酸代谢过程、对异生物刺激的反应、类固醇代谢过程、血管内皮生长因子生成的正向调节、炎症反应调节等过程

上;细胞组分主要与细胞顶端、顶端质膜、病灶粘连、细胞-基底交界处、质膜筏、肽酶抑制复合体等相关;分子功能主要与氧化还原酶活性、醇脱氢酶(NADP<sup>+</sup>)活性、G蛋白耦联肽受体活性相关,见图6。KEGG 富集分析显示:交集基因主要富集在PI3K/AKT 信号通路、AGE-RAGE 信号通路、TNF 信号通路、cAMP 信号通路、NF-kappa B 信号通路、IL-17 信号通路、cGMP-PKG 信号通路等,见图7。结合网络药理学预测结果,本研究拟选用 AKT/GSK-3 $\beta$ /Snail (Slug) 信号通路进一步验证乌附理中汤作用机制。

3.6 CCK-8 法筛选最佳药物浓度 CCK-8 检测结果显示:与对照组比较,不同浓度的乌附理中汤(0.25、1、4、8、16、32  $\mu\text{mol/L}$ )分别作用于 HGC27 细胞和 MKN28 细胞 24、48、72 h 后,HGC27 细胞和 MKN28 细胞的增殖均受到明显抑制( $P<0.01$ ),且该生长抑制作用具有浓度和时间依赖性。利用 GraphPad Prism 9.3.0 软件计算得到 HGC27 细胞 IC<sub>50</sub> 为 8.358 mg/mL,MKN28 细胞 IC<sub>50</sub> 为 8.741 mg/mL,根据统计结果,选择乌附理中汤 10 mg/mL 作为后续实验最佳作用浓度。见图 8—9。

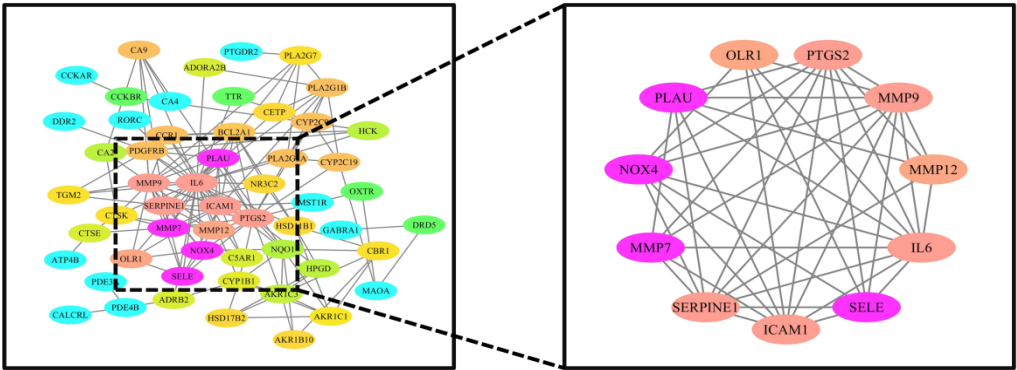


图5 PPI 网络分析

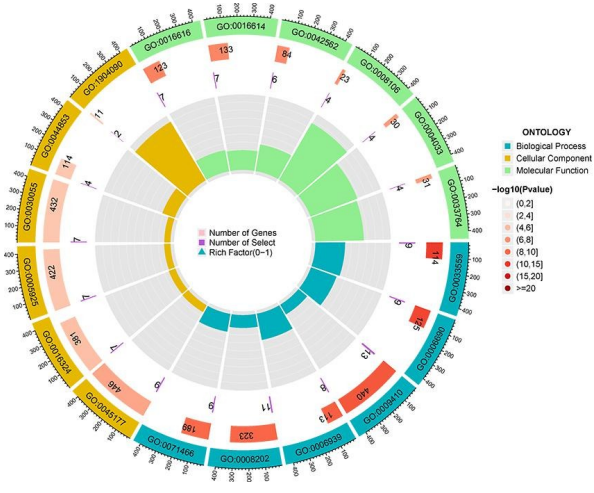


图6 GO 富集分析

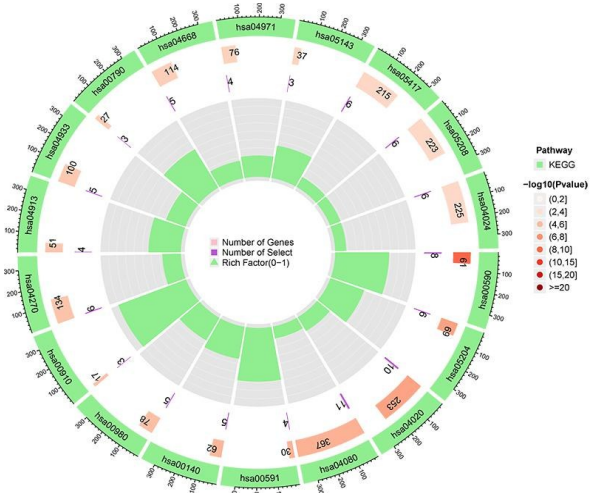
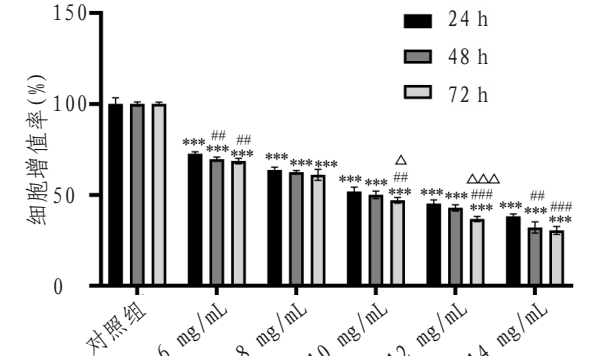
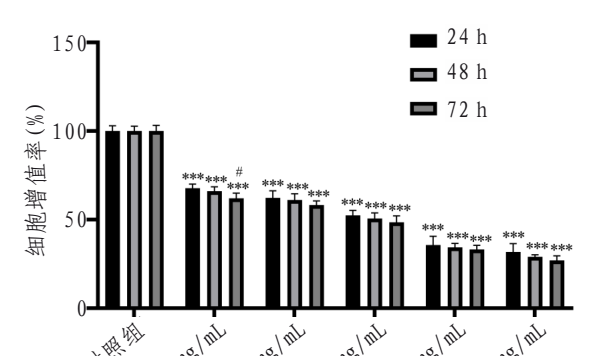


图7 KEGG 富集分析



注:与对照组同期比较,\*\*\*表示 $P<0.001$ ;与对照组 24 h 比较,##表示 $P<0.01$ ,###表示 $P<0.001$ ;与对照组 48 h 比较, $\Delta$ 表示 $P<0.05$ , $\Delta\Delta\Delta$ 表示 $P<0.001$

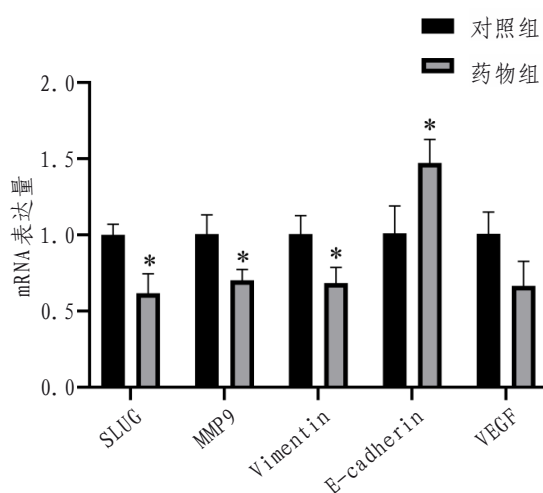
图8 不同浓度乌附理中汤对 HGC27 细胞增殖的影响



注:与对照组同期比较,\*\*\*表示 $P<0.001$ ;与对照组 48 h 比较,#表示 $P<0.05$

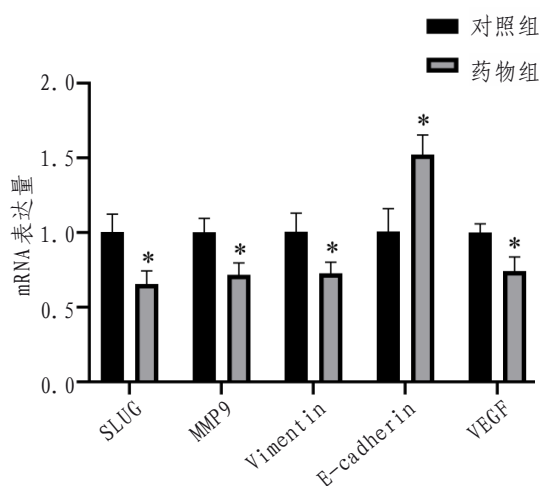
图9 不同浓度乌附理中汤对 MKN28 细胞增殖的影响

**3.7 RT-qPCR 法检测细胞 SLUG、MMP9、Vimentin、E-Ca、VEGF mRNA 表达** RT-qPCR 结果显示:与对照组比较,经乌附理中汤处理后,在 HGC27 细胞中,SLUG、MMP9、Vimentin mRNA 表达水平均下调( $P<0.05$ ),E-Ca mRNA 表达水平上调( $P<0.05$ );VEGF 的转录表达水平未见显著改变( $P>0.05$ ),见图 10。在 MKN28 细胞中,SLUG、MMP9、Vimentin、VEGF mRNA 表达水平均下调( $P<0.05$ ),E-Ca mRNA 表达水平上调( $P<0.05$ ),见图 11。



注:与对照组同期比较,\*表示 $P<0.05$

图 10 HGC27 细胞 SLUG、MMP9、Vimentin、E-Ca、VEGF mRNA 表达



注:与对照组同期比较,\*表示 $P<0.05$

图 11 MKN28 细胞 SLUG、MMP9、Vimentin、E-Ca、VEGF mRNA 表达

**3.8 Western blot 法检测细胞 AKT、p-AKT、GSK-3 $\beta$ 、p-GSK-3 $\beta$ 、SLUG、MMP9、Vimentin、E-Ca、VEGF 蛋白表达** 与对照组比较,经乌附理中汤处理后,在 HGC27 细胞中,p-AKT、GSK-3 $\beta$ 、p-GSK-3 $\beta$ 、SLUG、MMP9、Vimentin、VEGF 蛋白表达水平均下调( $P<0.01$ ),E-Ca、AKT 蛋白表达水平上调( $P<0.05$ )。

在 MKN28 细胞中,p-AKT、AKT、SLUG、MMP9、Vimentin、VEGF 蛋白表达水平均下调( $P<0.05$ ),E-Ca、p-GSK-3 $\beta$  蛋白表达水平上调( $P<0.001$ ),GSK-3 $\beta$  在蛋白表达水平未见显著性改变( $P>0.05$ ),见图 12—14。

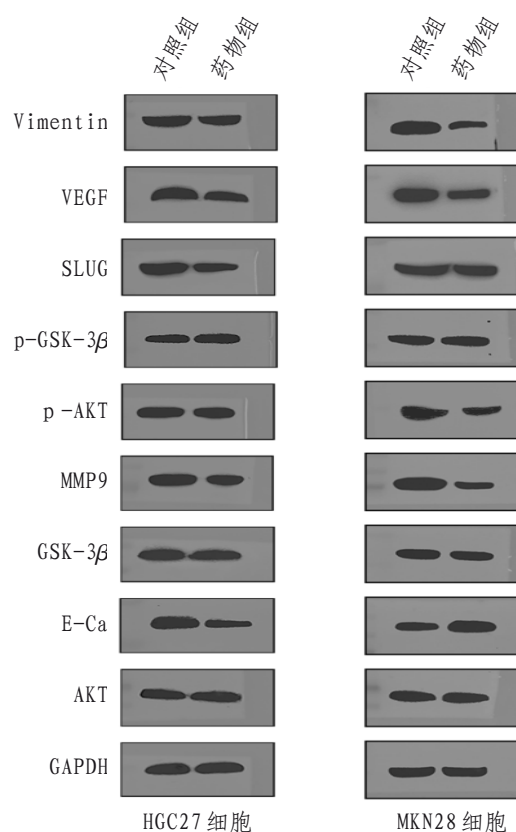
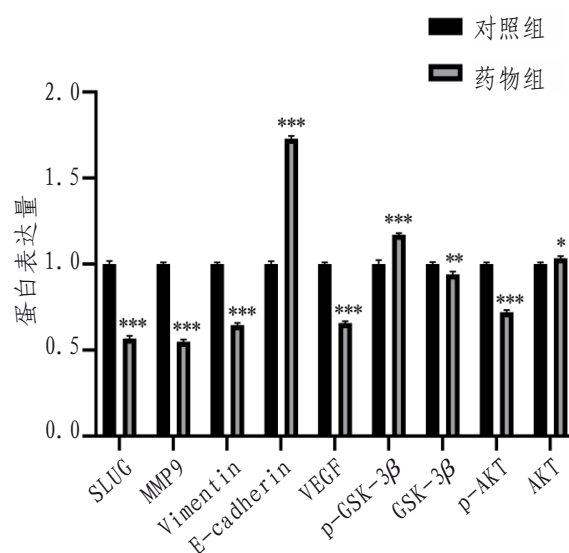
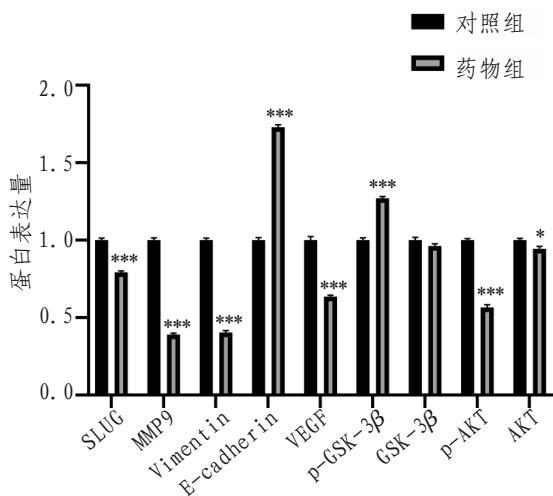


图 12 HGC27 细胞与 MKN28 细胞蛋白表达条带



注:与对照组同期相比,\*表示 $P<0.05$ ,\*\*表示 $P<0.01$ ,\*\*\*表示 $P<0.001$

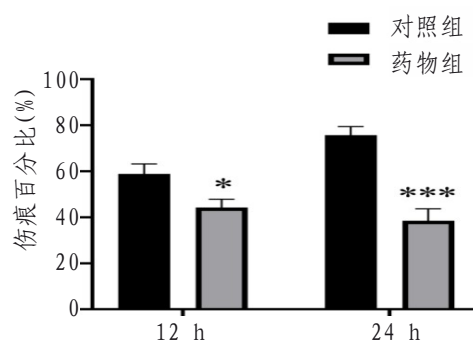
图 13 HGC27 细胞 AKT、p-AKT、GSK-3 $\beta$ 、p-GSK-3 $\beta$ 、SLUG、MMP9、Vimentin、E-Ca、VEGF 蛋白表达情况



注:与对照组同期相比,\*表示 $P < 0.05$ ,\*\*表示 $P < 0.01$ ,\*\*\*表示 $P < 0.001$

图14 MKN28细胞AKT、p-AKT、GSK-3β、p-GSK-3β、SLUG、MMP9、Vimentin、E-Ca、VEGF蛋白表达情况

**3.9 细胞划痕实验** 与对照组比较,药物组能显著抑制HGC27细胞的迁移能力( $P < 0.05$ );在MKN28细胞中,与对照组相比,药物组对细胞迁移能力无显著影响( $P > 0.05$ ),见图15—17。



注:与对照组同期相比,\*表示 $P < 0.05$ ,\*\*\*表示 $P < 0.001$   
图15 HGC27细胞药物组与对照组对细胞划痕的影响

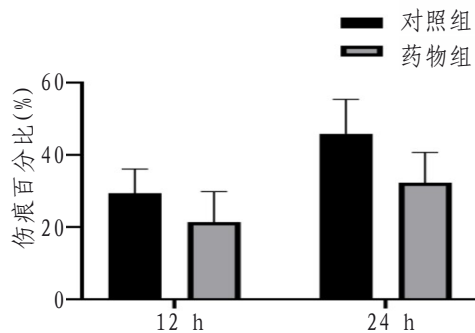


图16 MKN28细胞药物组与对照组对细胞划痕的影响

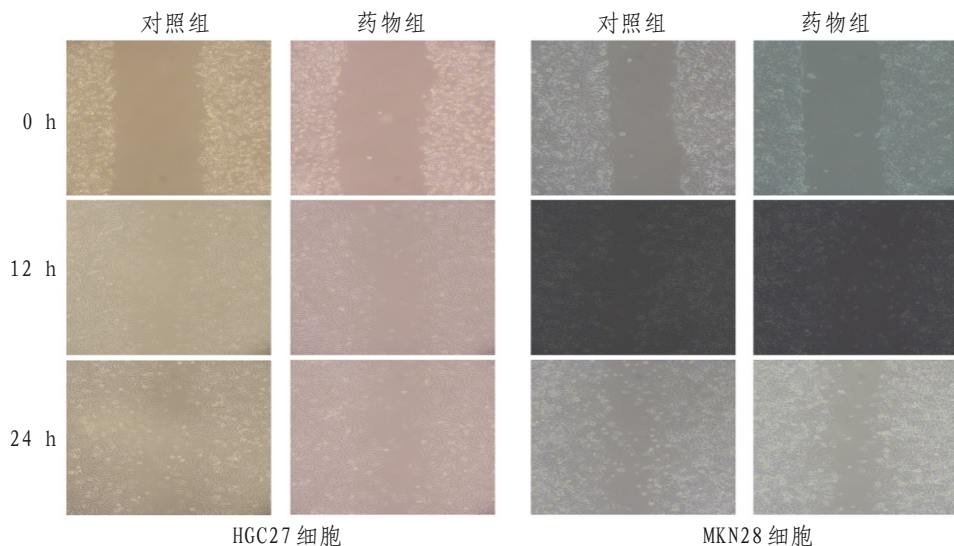


图17 HGC27细胞与MKN28细胞划痕实验示意图

#### 4 讨论

本研究通过网络药理学及细胞实验探讨乌附理中汤治疗胃癌的作用机制。根据乌附理中汤的药物-成分-疾病网络图可知,羟基茺花素、槲皮素、豆甾醇、草质素-8-甲醚、水黄皮素为主要成分。羟基茺花素是一种从茺花中提取的天然类黄酮<sup>[4]</sup>。研究表明,羟基茺花素可通过miR-320a/SOX9轴抑制肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移<sup>[6]</sup>,同时,其还可通过增强EGFR降解抑制肿瘤细胞增殖<sup>[6]</sup>。槲皮素是黄酮醇类的主要代表,普遍存在于水果

和蔬菜中。槲皮素的抗癌作用包括其通过调节PI3K/AKT/mTOR、Wnt/-catenin和MAPK/ERK1/2通路抑制肿瘤细胞活力,促进细胞凋亡和自噬的能力<sup>[7-9]</sup>。水黄皮素是一种具有生物活性的呋喃黄酮类化合物,其可通过调控PI3K/AKT信号通路发挥抗肿瘤作用,还可通过抑制I-κB降解来降低ROS水平,从而限制NF-κB核易位而诱导癌细胞凋亡<sup>[10-11]</sup>。豆甾醇可通过促进细胞凋亡、抑制增殖、转移和侵袭以及诱导肿瘤细胞自噬,在多种恶性肿瘤(如乳腺癌、胃癌、肺癌、肝癌和卵巢癌)中具

有抗肿瘤作用<sup>[12-14]</sup>。综上所述,乌附理中汤可能是通过抑制胃癌细胞增殖、侵袭及诱导癌细胞凋亡而发挥抗肿瘤作用。

对交集靶点进一步进行PPI网络分析,发现 OLR1、PTGS2、MMP9、MMP12、IL-6、SELE、ICAM1、MMP7、SERPINE1、NOX4、PLAU 等靶点为核心靶点。氧化低密度脂蛋白受体1(oxidized low-density lipoprotein receptor 1, OLR1)是一种凝集素样清道夫受体,可识别多种配体,例如氧化低密度脂蛋白,先前已在心血管和代谢疾病中报道<sup>[15]</sup>。有研究表明,OLR1在胰腺癌组织中的表达明显高于邻近正常组织中的表达,并且与总生存期降低密切相关。OLR1在体外和体内均促进胰腺癌细胞的增殖和转移<sup>[16]</sup>。PTGS2也称为COX-2,研究证实,COX-2在胃癌及其前体病变中的表达升高,COX-2表达与胃癌患者生存率降低有关,并且它也被证明是预后不良的独立因素<sup>[17]</sup>。MMP-9是一种重要的蛋白酶,参与肿瘤的侵袭、转移和血管生成<sup>[18]</sup>。已有研究证实,可通过阻断MMP-9诱导的血管渗漏来减轻结直肠癌肝转移<sup>[19]</sup>。炎症反应在癌症发展中起着关键作用,包括肿瘤的发生、促进、进展和转移。细胞因子被认为是连接炎症和癌症的重要介质,因此是潜在的治疗和预防靶点以及预后因素。而IL-6在许多癌症中呈现高表达,被认为是肿瘤发生和转移过程中最重要的细胞因子家族之一<sup>[20]</sup>。

进一步对GO和KEGG结果进行分析,交集基因多富集在AGE-RAGE、TNF、cAMP、NF- $\kappa$ B、IL-17、cGMP-PKG等信号通路上。AGE-RAGE信号转导在各种癌症的进展中已得到证实。在癌症进展过程中,RAGE的表达会成倍增加。AGE-RAGE信号转导的激活也会扰乱细胞氧化还原平衡并调节各种细胞死亡途径,在癌症进展过程中,RAGE的表达会成倍增加。AGE-RAGE信号转导的激活也会扰乱细胞氧化还原平衡并调节各种细胞死亡途径<sup>[21]</sup>。cAMP通路是正常和肿瘤性细胞中最重要的信号级联反应之一,通过其主要的效应蛋白PKA和EPAC,调节基因表达和许多细胞功能<sup>[22]</sup>。卵巢癌的生长和代谢很大程度上取决于cAMP-PKA-CREB轴信号处理的变化,通常与肿瘤转化、转移、增殖和细胞凋亡抑制有关<sup>[23]</sup>。转录因子核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)家族是免疫发育、免疫反应、炎症和癌症的关键调节因子<sup>[24]</sup>。研究证实,在结直肠癌中,NF- $\kappa$ B信号通路在细胞增殖、凋亡、血管生成和转移等癌症相关过程中起关键作用<sup>[25]</sup>。

综上所述,乌附理中汤能通过多靶点、多通路发挥治疗胃癌的作用,所涉及的靶点和通路与胃癌细胞增殖、侵袭、细胞凋亡及炎症反应密切相关。结合细胞验证实验结果,推测乌附理中汤可能通过靶向抑制AKT/GSK-3 $\beta$ /Snail(Slug)信号通路活性,达到抑制胃癌的目的。

#### 参考文献

- [1] YANG W J, ZHAO H P, YU Y, et al. Updates on global epidemiology, risk and prognostic factors of gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(16): 2452-2468.
- [2] HE F, WANG S, ZHENG R, et al. Trends of gastric cancer burdens attributable to risk factors in China from 2000 to 2050[J]. Lancet Reg Health West Pac, 2024, 44: 101003.
- [3] 杨斌峰, 黄邦荣, 王鑫, 等. 基于“肾者, 胃之关也”理论探讨裴正学教授治疗胃癌的学术思想[J]. 西部中医药, 2024, 37(8): 28-32.
- [4] HUANG Y C, LEE P C, WANG J J, et al. Anticancer effect and mechanism of hydroxygenkwanin in oral squamous cell carcinoma[J]. Front Oncol, 2019, 9: 911.
- [5] DONG X, WANG Y, ZHUANG H, et al. Hydroxygenkwanin suppresses proliferation, invasion and migration of osteosarcoma cells via the miR-320a/SOX9 axis[J]. Mol Med Rep, 2022, 26(4): 299.
- [6] LEU Y L, WANG T H, WU C C, et al. Hydroxygenkwanin suppresses non-small cell lung cancer progression by enhancing EGFR degradation[J]. Molecules, 2020, 25(4): 941.
- [7] REYES-FARIAS M, CARRASCO-POZO C. The anti-cancer effect of quercetin: molecular implications in cancer metabolism[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(13): 3177.
- [8] JIA L, HUANG S, YIN X, et al. Quercetin suppresses the mobility of breast cancer by suppressing glycolysis through AKT-mTOR pathway mediated autophagy induction[J]. Life Sci, 2018, 20(8): 123-130.
- [9] WARD A B, MIR H, KAPUR N, et al. Quercetin inhibits prostate cancer by attenuating cell survival and inhibiting anti-apoptotic pathways[J]. World J Surg Oncol, 2018, 16(1): 108.
- [10] YU J, YANG H, LV C, et al. The cytotoxicity of karanjin toward breast cancer cells is involved in the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Drug Dev Res, 2022, 83(7): 1673-1682.
- [11] ROY R, PAL D, SUR S, et al. Pongapin and Karanjin, furanoflavonoids of Pongamia pinnata, induce G2/M arrest and apoptosis in cervical cancer cells by differential reactive oxygen species modulation, DNA damage, and nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cell signaling[J]. Phytother Res, 2019, 33(4): 1084-1094.
- [12] BAE H, SONG G, LIM W. Stigmasterol causes ovarian cancer cell apoptosis by inducing endoplasmic reticulum and mitochondrial dysfunction[J]. Pharma