

基于网络药理学的干姜抗癌作用机制分析

耿胜男¹, 杨莉¹, 李阳杰¹, 杜钢军^{1, 2*}

1. 郑州工业应用技术学院, 河南 郑州 451150

2. 河南大学 药学院药物研究所, 河南 开封 475000

摘要: **目的** 采用网络药理学方法探究干姜的主要活性成分及其抗癌作用机制。**方法** 在中药系统药理学分析平台(TCMSP)数据库中检索干姜的化学成分, 根据“类药五原则”与“口服生物利用度”≥30%这一标准筛选干姜的活性成分, 预测其活性成分对应的作用靶点, 采用Cytoscape 3.2.1软件构建活性成分-预测靶点网络图。在Genecards数据库中以“anti-cancer”为关键词搜索抗癌靶点, 与干姜靶点映射筛选出共同靶点作为干姜的抗癌靶点。将干姜抗癌靶点导入STRING数据库中进行蛋白质-蛋白质相互作用分析, 构建靶蛋白相互作用网络图(PPI), 利用Cytoscape3.2.1的“CytoNCA”插件筛选干姜的抗癌核心靶点。使用DAVID数据库及Cytoscape3.2.1的“ClueGO”插件对干姜抗癌靶点进行KEGG信号通路富集分析和GO生物过程富集分析, 并构建干姜活性成分-核心抗癌靶点-信号通路网络图。**结果** 获得干姜中具有类药性、口服吸收良好的活性成分52种, 对应靶点101个。其中抗癌靶点39个, 核心靶点10个。KEGG富集分析得到与干姜抗癌作用有关的信号通路68条, 主要涉及肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、血管内皮生长因子(VEGF)信号通路等。GO富集分析得出与干姜抗癌作用有关的生物过程35个, 主要涉及到一氧化氮生物合成、细胞增殖与凋亡等。**结论** 本研究初步揭示了干姜的药效物质基础及其可能的抗癌作用机制, 为干姜抗癌研究提供参考。

关键词: 网络药理学; 干姜; 抗癌; 靶点; 信号通路

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2019)09-1730-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.09.005

Anti-cancer mechanism of *Zingiberis Rhizoma* based on network pharmacology

GENG Shengnan¹, YANG Li¹, LI Yangjie¹, DU Gangjun^{1,2}

1. Zhengzhou University of Industry Technology, Zhengzhou 451150, China

2. Institute of Pharmacy, Pharmacy College of Henan University, Kaifeng 475004, China

Abstract: **Objective** To explore the active components and the anti-cancer mechanism of *Zingiberis Rhizoma* by network pharmacology. **Methods** The components of *Zingiberis Rhizoma* were searched through the Chinese Medicine System Pharmacology (TCMSP) database. The active components of *Zingiberis Rhizoma* were screened with "Lipinski rule" and "Oral Bioavailability≥30%" rules, the corresponding targets of the active components were predicted. Cytoscape 3.2.1 was used to build a network between components and targets. Anti-cancer targets were searched from Genecards database with the keyword "anti-cancer", the anti-cancer targets was mapped to the targets of *Zingiberis Rhizoma* to screen out the common targets as the anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma*. The anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma* were imported into STRING database for protein-protein interaction analysis, and the target protein interaction network graph (PPI) was constructed. Cytoscape 3.2.1 "CytoNCA" plug-in unit was used to screen the key anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma*. DAVID database and Cytoscape 3.2.1 "ClueGO" plug-in unit were used to perform KEGG pathway enrichment analysis and GO biological process enrichment analysis, and build active ingredients-key anticancer targets-KEGG pathway network map. **Results** 52 components and 101 corresponding targets of *Zingiberis Rhizoma* with drug-like properties and good oral absorption were obtained. Among them, there were 39 targets with anti-cancer effects and 10 key anti-cancer targets. KEGG signaling pathway analysis of anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma* obtained 68 signaling pathways, mainly related to TNF signaling pathway and VEGF signaling pathway, etc. GO biological process analysis obtained 35 biological processes, mainly involved in nitric oxide biosynthesis, cell proliferation and apoptosis, etc.

收稿日期: 2019-01-28

基金项目: 河南省自然科学基金资助项目(182300410310); 郑州工业应用技术学院校级科研项目(2018YB021)

第一作者: 耿胜男(1994—), 女, 硕士, 讲师, 从事中药药理及肿瘤药理学研究。Tel: 16637100686 E-mail: 1017172540@qq.com

*通信作者: 杜钢军, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药理及肿瘤药理学研究。Tel: 15037883506 E-mail: gsnwjie@163.com

Conclusion This study preliminarily revealed the pharmacodynamic substance basis of *Zingiberis Rhizoma* and its possible anti-cancer pharmacological effects, providing basis for anti-cancer research of *Zingiberis Rhizoma*.

Key words: Network pharmacology; *Zingiberis Rhizoma*; anti-cancer; targets; signaling pathway

干姜 *Zingiberis Rhizoma* 又称为均姜、白姜,是主产于四川、贵州的一种姜科(*Zingiberaceae*)姜属的植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎,冬季采挖,去除掉茎叶、根须后,洗净、晒干或者经过低温干燥后即成干姜^[1-2]。干姜始载于《神农本草经》,味辛、性热,归脾、胃、心、肺、肾经,具有温中散寒、回阳通脉、温肺化饮之功效,临床多用于寒饮咳喘、呕吐泄泻、脘腹冷痛、肢冷脉微之症^[1]。现代研究发现,干姜的化学成分复杂,已发现的有100余种,主要包括挥发油、辛辣成分及一些其他成分。挥发油组分主要包括 α -姜烯及反- β -金合欢烯,辛辣成分包括姜酚、姜烯酚、姜酮等,此外,干姜还含有 β -谷甾醇、棕榈酸、胡萝卜苷等^[3]。

传统中药化学成分多,药理作用机制复杂,进行系统的机制研究较为困难^[4]。与化学药物相比,中医药的治疗往往注重对复杂疾病的辩证治疗,强调整体性,体现了中药多成分-多靶点-多途径作用的特点^[5]。随着生物信息学的出现,运用网络药理学可以建立中药复杂成分的分子网络与多重靶点之间的互作关系,从多靶点的角度实现药物作用的综合分析,目前已被广泛的用于中药潜在活性成分及其作用靶点的预测,为中药抗病机制的研究指明了方向^[6-7]。因此,本研究将采用网络药理学方法筛选中药干姜的主要活性成分,预测其抗癌作用靶点及相关信号通路和生物过程,为干姜抗癌活性成分的开发和作用机制研究提供参考。

1 方法

1.1 干姜活性成分及靶点筛选

在中药系统药理学分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)中检索“干姜”,得出干姜的活性成分及靶点,根据类药五原则与口服生物利用度 $\geq 30\%$ 的标准筛选干姜的主要有效活性成分及其靶点。“类药五原则”即相对分子质量(MW) < 500 、氢键供体数目(Hdon) < 5 、氢键受体数目(Hacc) < 10 、油水分配系数(AlogP) < 5 、可旋转键的数量 ≤ 10 个^[8]。

1.2 干姜活性成分-靶点网络构建

将“1.1项”中得到的干姜的活性成分所对应的靶点在UniProt数据库(<http://www.uniprot.org/uploadlists/>)中转换为统一的基因名称。把干姜的

活性成分及其相应的靶基因导入Cytoscape 3.2.1中,进行干姜活性成分-靶点网络图的构建,导出其相关的拓扑数据如度值、介数等,并运用“Network Analyzer”功能分析其拓扑学属性。度值可反应网络中某节点与其他节点的链接数目,介数反应了网络中所有最短的路径中经过该节点的路径的数目与最短路径总数的比值。度值和介数是评价一个节点在网络中的比重的重要拓扑学参数。

1.3 干姜抗癌相关靶点的搜集

Genecards数据库(<https://www.genecards.org/>)是一个可提供基因组、蛋白质组、转录、遗传及功能上所有已知人类基因的平台。以“anti-cancer”为关键词,搜集抗癌相关的靶点信息。将在Genecards中检索得到的抗癌靶点与干姜的靶点在Venny 2.1.0中映射筛选出共同靶点,作为干姜的抗癌靶点,导入Cytoscape 3.2.1中构建化合物-抗癌靶点网络,运用“Network Analyzer”功能分析其拓扑学属性。

1.4 抗癌靶点互作网络的构建及核心抗癌靶点的确定

为了明确干姜的潜在抗癌靶点之间的相互作用,将筛选出的靶点导入STRING网络平台(<https://string-db.org/>)中构建靶点互作网络图(PPI)。把蛋白种类设置为“Homo sapiens(人类)”,其他参数设为默认值,得出靶点互作网络图,保存为tsv文件,导入Cytoscape3.2.1中,采用其“CytoNCA”插件进行分析,确定干姜的核心抗癌靶点。

1.5 KEGG信号通路和GO生物过程富集分析

将“1.4项”中得到的干姜潜在抗癌靶点导入人类基因组注释数据库DAVID 6.8(<https://david.ncifcrf.gov/>)中进行KEGG信号通路和GO生物过程富集分析,以 $P < 0.05$ 作为显著功能与通路的临界值对靶基因进行筛选,得出干姜发挥抗癌药理作用的主要信号通路及参与的生物过程,结合Cytoscape中的ClueGo插件获取KEGG信号通路和GO生物过程富集分析的可视化结果进行综合分析。

1.6 干姜活性成分-核心抗癌靶点-代谢通路网络的构建

将干姜活性成分、核心抗癌靶点、代谢通路信息导入Cytoscape 3.2.1中,利用Cytoscape 3.2.1的“Merge”功能将其融合,构建干姜活性成分-核心抗癌靶点-代谢通路网络图。

2 结果

2.1 干姜主要活性成分信息

口服给药是临床普遍应用的一种给药方式,在新药开发过程中,若候选的天然产物OB不高则难以产生理想的药效^[9]。本研究在TCMSP数据库中

收集到干姜的化学成分共148个,按照类药五原则与OB≥30%的标准,筛选出干姜的主要活性成分52种,见表1。在干姜众多活性成分中,有效成分6-姜酚、6-姜烯酚已被多次报道具有良好的抗肿瘤和抗炎活性^[10-11]。

表1 干姜中的主要活性成分及其参数

Table 1 Main active components and their parameters in *Zingiberis Rhizoma*

编号	化合物名称	MW	AlogP	Hdon	Hacc	OB/%
1	β -fenchyl acetate, exo-	196	2.49	0	2	109
2	(+/-)-isoborneol	154	1.98	1	1	87
3	borneol	154	1.98	1	1	82
4	ZINC01850974	154	2.11	1	1	79
5	3-cyclohexen-1-ol	98.2	1.06	1	1	71
6	2,6-nonamethylene pyridine	203	4.49	0	1	69
7	2-[(2 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-ethenyl-5-methyloxolan-2-yl]propan-2-ol	170	1.43	1	2	68
8	<i>L</i> -bornyl acetate	196	2.35	0	2	66
9	DBP	278	4.2	0	4	65
10	(2 <i>S</i>)-2-methylpentanal	100	1.86	0	1	63
11	sexangularetin	316	1.76	4	7	63
12	(+)-1,5-epoxy-nor-ketoguaia-11-ene	220	2.46	0	2	63
13	[(1 <i>S</i>)-3-[(<i>E</i>)-but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl](1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-3-[(<i>E</i>)-3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate	360	3.68	0	5	63
14	cyclopropyl ketone	110	1.27	0	1	62
15	neryl acetate	196	3.31	0	2	57
16	hexanal	100	1.85	0	1	56
17	(-)- α -cedrene	204	4.12	0	0	56
18	methylbutenol	86.2	0.84	1	1	55
19	<i>o</i> -cymol	134	3.51	0	0	52
20	bicyclo[3.1.0]hex-2-ene,4-methyl-1-(1-methylethyl)-	136	2.68	0	0	51
21	mesotrihydroxypiperidine	133	-1.93	4	4	50
22	(-)-myrtenol	152	1.78	1	1	50
23	(<i>L</i>)- α -terpineol	154	2.42	1	1	49
24	5-isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hex-2-ene	136	2.87	0	0	47
25	PGR	76.1	-0.52	2	2	47
26	(-)- α -pinene	136	2.87	0	0	46
27	(1 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-isopropyl-4-methylenebicyclo[3.1.0]hexane	136	2.93	0	0	46
28	4-(1,5-dimethylhex-4-enyl)cyclohex-2-enone	206	3.94	0	1	46
29	(-)-nopinene	136	2.93	0	0	45
30	isovaleral	86.2	1.19	0	1	45
31	shyobunone	220	3.84	0	1	44
32	(<i>Z</i> , <i>Z</i>)-farnesol	222	4.76	1	1	41
33	ZINC02040970	222	4.56	1	1	40
34	(4 <i>S</i>)-4-isopropylcyclohexene-1-carbaldehyde	152	2.86	0	1	40
35	β -humulene	190	4.63	0	0	40
36	(+)- β -Phellandrene	136	3.31	0	0	40
37	hemosol	136	3.5	0	0	40

(续表1)

编号	化合物名称	MW	AlogP	Hdon	Hacc	OB/%
38	(R)-linalool	154	2.74	1	1	40
39	1,8-cineole	154	2.15	0	1	40
40	β -citronellol	156	3.05	1	1	39
41	β -rhodinol	156	3.05	1	1	38
42	neryl propionate	210	3.98	0	2	37
43	terragon	148	2.82	0	1	37
44	tricyclene	136	2.3	0	0	36
45	(-)-citronellal	154	3.02	0	1	36
46	6-gingerol	294	3.47	2	4	36
47	D-camphene	136	2.93	0	0	35
48	(-)-camphene	136	2.93	0	0	35
49	terpilene	136	3.45	0	0	34
50	moslene	136	3.45	0	0	33
51	[(3S)-3,7-dimethyloct-7-enyl] acetate	198	3.48	0	2	31
52	6-shogaol	276	4.55	1	3	31

2.2 干姜活性成分-预测靶点网络

干姜活性成分-预测靶点网络(图1)中共包括了153个节点(52个化合物节点和101个靶点节点),组成了703条相互作用关系,平均度值为11.54,介数平均为0.012。网络图中各个节点的度值分布与介数中心性分布的整体情况见图2。

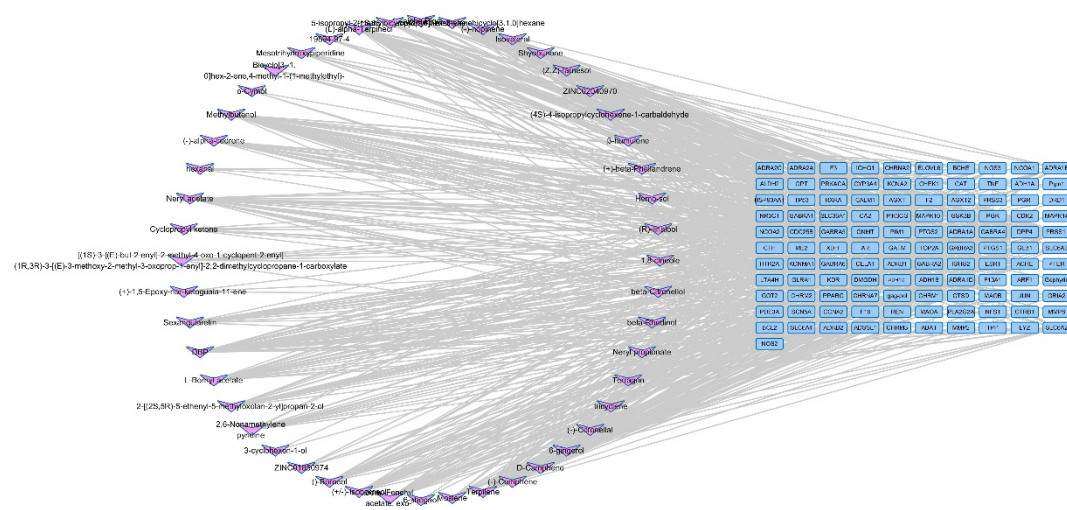
2.3 干姜抗癌作用靶点的搜集与干姜活性成分-抗癌靶点网络的构建

以“anti-cancer”为关键词,在 Genecards 数据库中挖掘到抗癌相关靶点1 885个,并将检索结果导

出。将干姜的101个药物靶点与1 885个抗癌基因在 Venny 2.1.0 中映射,得到39个共同靶点。以39个共同靶点作为干姜的抗癌靶点(表2),并导入 Cytoscape 3.2.1 中构建干姜活性成分-抗癌靶点网络(图3)。网络图中各个节点的度值分布与介数中心性分布整体情况见图4。

2.4 干姜抗癌靶点互作网络构建及核心抗癌靶点筛选

将干姜的抗癌相关靶点导入 STRING 中,构建 PPI 网络。PPI 网络中包括39个节点、251条相互作用连线,该网络的平均度值为12.9,见图5。将在



红色表示活性化合物,蓝色表示靶点
Red is the active compound, blue is the target

图1 干姜活性成分-预测靶点网络图

Fig. 1 Active ingredients-prediction targets network of *Zingiberis Rhizoma*

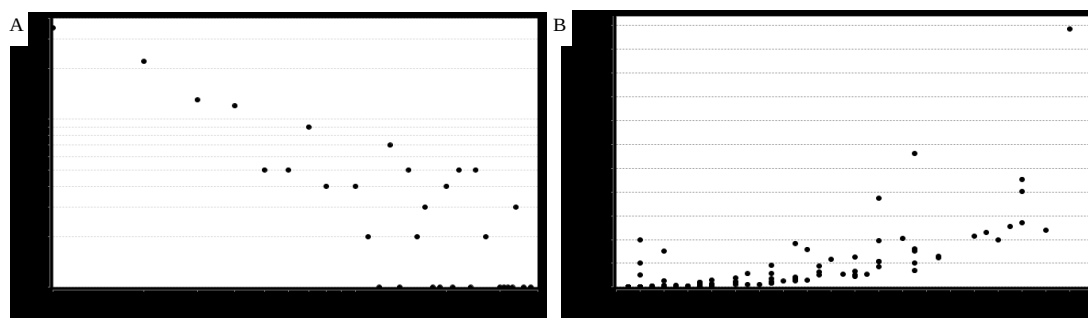


图2 干姜预测靶点的度值(A)和介数中心性(B)分布

Fig. 2 Degree (A) and betweenness centrality (B) distribution of prediction targets of *Zingiberis Rhizoma*

表2 干姜抗癌作用靶点(前20位)

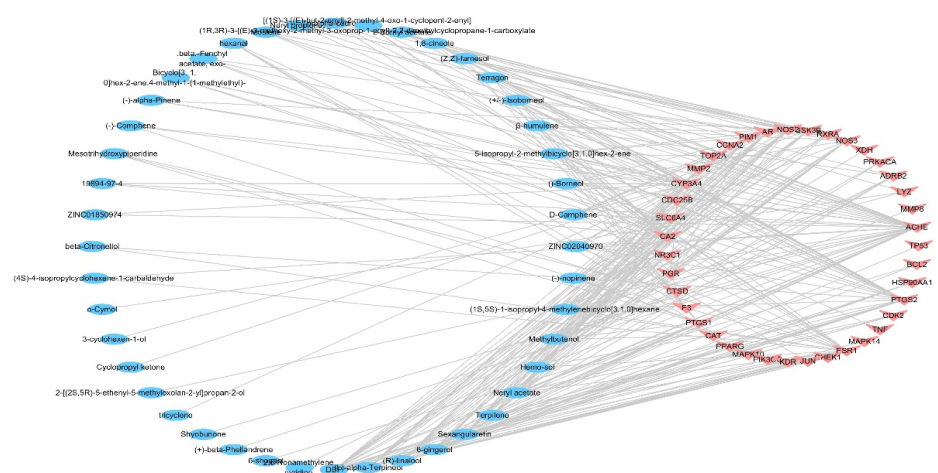
Table 2 Anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma*(Top 20)

基因	靶点名称
TP53	Cellular tumor antigen p53
BCL2	Apoptosis regulator Bcl-2
HSP90AA1	Heat shock protein HSP 90
PTGS2	Prostaglandin G/H synthase 2
CDK2	Cell division protein kinase 2
TNF	Tumor necrosis factor
MAPK14	Mitogen-activated protein kinase 14
ESR1	Estrogen receptor
CHEK1	Serine/threonine-protein kinase Chk1
JUN	Transcription factor AP-1
KDR	Vascular endothelial growth factor receptor 2
PIK3CG	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit, gamma isoform
MAPK10	Mitogen-activated protein kinase 10
PPARG	Peroxisome proliferator activated receptor gamma
CAT	mRNA of PKA Catalytic Subunit C-alpha
PTGS1	Prostaglandin G/H synthase 1
F3	Tissue factor
CTSD	Cathepsin D
NR3C1	Glucocorticoid receptor
CA2	Carbonic anhydrase II

STRING 平台中构建的PPI网络数据导入Cytoscape 3.2.1中,按照度值降序排序筛选出核心靶蛋白10个: TP53、JUN、PIK3CG、ESR1、BCL2、TNF、MAPK14、PTGS2、HSP90AA1、NOS3,见表3、图6。这些蛋白与多种癌症如神经胶质瘤、鼻咽癌、结直肠癌、急性淋巴细胞白血病、胃癌、乳腺癌、肺癌的发生、转移有关,与一些炎症反应、细胞凋亡、氧化应激损伤也密切相关^[12-19]。靶点的度值越高,则表明活性成分作用于该靶点发挥抗癌作用的几率越大,提示干姜可能主要通过以上核心靶点产生抗癌作用。

2.5 KEGG 信号通路富集分析

对2.3中得到的干姜抗癌靶点进行KEGG信号通路富集分析,筛选出 $P < 0.05$ 的信号通路68条,结果见表4,利用Cytoscape插件“ClueGo”得出KEGG分析的可视化结果见图7。干姜的抗癌靶点主要涉及到癌症相关信号通路如小细胞肺癌、前列腺癌、大肠癌、肿瘤中的蛋白聚糖、甲状腺癌、病毒性癌变、肿瘤中的microRNA、子宫内膜癌、非小细胞肺癌、癌症的转录失调、胰腺癌等11条。除此之外, TNF信号通路、VEGF信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、Wnt信号通路、HIF-1信号通



蓝色为干姜抗癌活性成分,红色为抗癌靶点

Blue is the anticancer active ingredient of *Zingiberis Rhizoma*, red is the anti-cancer target

图3 干姜活性成分-抗癌靶点网络

Fig. 3 Active ingredients-anticancer targets network of *Zingiberis Rhizoma*

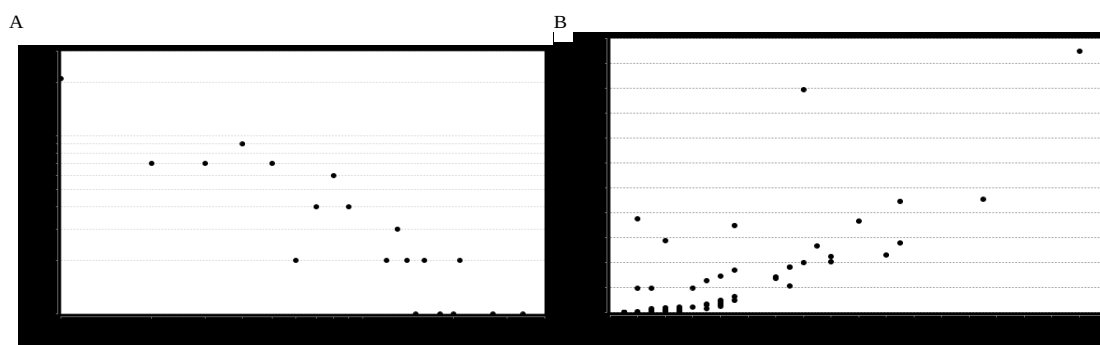


图4 干姜抗癌靶点度值(A)和介数中心性(B)的分布

Fig. 4 Degree (A) and betweenness centrality (B) distribution of the anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma*

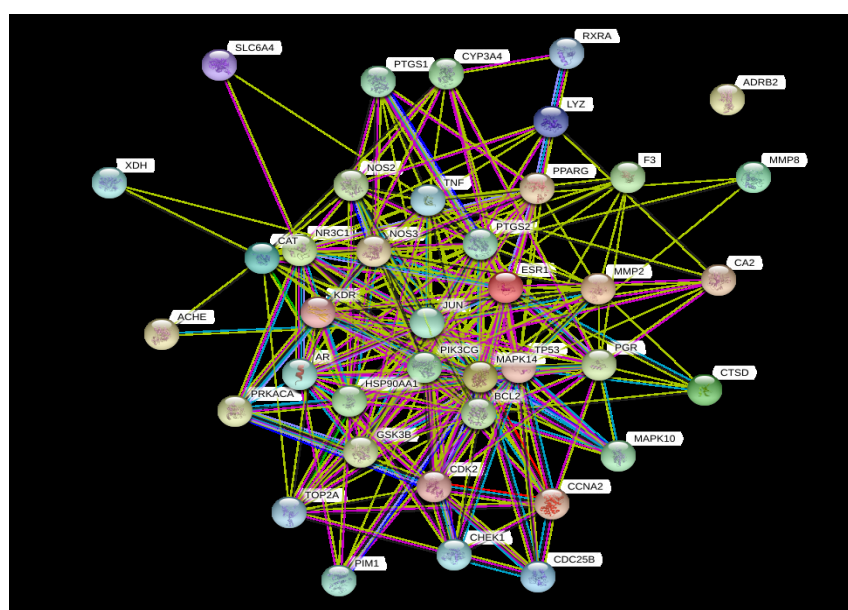
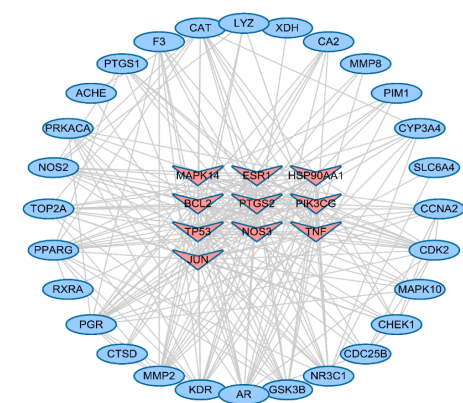


图5 干姜抗癌靶点PPI网络图

Fig. 5 PPI network of the anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma*

表3 干姜的核心抗癌靶点及其拓扑学性质
Table 3 Key anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma* and its topological properties

编号	核心靶蛋白	核心靶基因	度值	介数
1	Cellular tumor antigen p53	TP53	31.0	0.016 387 380
2	Transcription factor AP-1	JUN	28.0	0.012 368 321
3	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit, gamma isoform	PIK3CG	23.0	0.003 275 132
4	Estrogen receptor	ESR1	24.0	0.005 636 293
5	Apoptosis regulator Bcl-2	BCL2	23.0	0.003 788 545
6	Tumor necrosis factor	TNF	25.0	0.010 799 872
7	Mitogen-activated protein kinase 14	MAPK14	22.0	0.003 983 117
8	Prostaglandin G/H synthase 2	PTGS2	22.0	0.004 546 991
9	Heat shock protein HSP 90	HSP90AA1	21.0	0.003 198 295
10	Nitric-oxide synthase, endothelial	NOS3	19.0	0.005 511 443



红色为干姜的核心抗癌靶点

Red is the core anti-cancer target of *Zingiberis Rhizoma*

图6 干姜的核心抗癌靶点

Fig.6 Key anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma*

路、AMPK 信号通路、p53 信号通路等均与癌症发病机制密切相关,提示干姜的活性成分可能通过作用于以上信号通路调控癌症的发展进程。

2.6 GO 生物过程分析

对“2.3”项中得到的干姜抗癌靶点进行 GO 生物过程富集分析,筛选出 $P < 0.05$ 的生物过程 35 个,见表 5。利用 Cytoscape 插件“ClueGo”得出 GO 生物过程富集分析的可视化结果见图 8。干姜抗癌靶点所涉及到的生物过程包括一氧化氮生物合成、细胞增殖与凋亡、蛋白质自磷酸化、COX 途径、炎症反应、过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路、活性氧代谢等 35 个生物过程。提示干姜的活性成分可能通过干预以上生物过程调控癌症的发生和发展。

2.7 干姜活性成分-核心抗癌靶点-代谢通路网络图

将干姜活性成分、核心抗癌靶点、代谢通路信息导入 Cytoscape 3.2.1 中使用“Merge”功能进行融合,构建出干姜活性成分-核心抗癌靶点-代谢通路网络图,见图 9。

3 讨论

干姜在民间是常用的药食同源的中药材,具有极好的药用价值,在《本草纲目》、《本草经疏》等多部著名的中医药典籍中有记载,临床常用于脘腹冷痛、呕吐泄泻、寒饮喘咳之症^[20]。本研究利用网络药理学方法筛选出干姜中包括 6-姜酚、6-姜烯酚等在内的 52 个主要活性成分及靶点 101 个,在 Genecards 数据库中得到抗癌靶点 1 885 个,与干姜的靶点映射得到干姜的抗癌靶点 39 个。据报道,干姜多种活性成分具有抗炎、抗氧化、抗癌、抗菌及免疫调节作用^[21]。6-姜酚又名姜辣素,在鲜姜和干姜中含量均较高^[22]。曾慧兰等^[23]研究发现 6-姜酚可通过抑制氧化应激反应、调节细胞周期,影响细胞凋亡信号转导、蛋白质生物合成及糖代谢过程诱导人白血病细胞 K562 凋亡。de Lima 等^[24]报道,6-姜酚可通过 Bax/Bcl2、p38/MAPK、TNF- α 、ERK1/2、ROS/NF- κ B/COX-2、p53 等途径产生抗肿瘤和抗转移作用。干姜的另一活性成分 6-姜烯酚也具有诱导结肠癌细胞、胃癌细胞等多种癌细胞凋亡的作用,其作用机制与抑制 VEGFR2、增加 P53 的表达有关^[25-26]。Qi 等^[27]研究证明 p53/p21 是 6-姜烯酚阻滞肿瘤细胞周期的主要途径,主要通过线粒体途径诱导细胞凋亡, Bcl-2 家族可能是其中的关键调节因子。

PPI 网络分析并筛选出 10 个核心抗癌靶点: TP53、JUN、PIK3CG、ESR1、BCL2、TNF、MAPK14、PTGS2、HSP90AA1、NOS3,与多种癌症如神经胶质瘤、鼻咽癌、结直肠癌、急性淋巴细胞白血病、胃癌、乳腺癌、肺癌的发生、转移有关,以及一些炎症、细胞凋亡、氧化应激损伤也密切相关,提示这些蛋白在干姜抗肿瘤作用机制中发挥关键作用。在核心

表4 干姜抗肺癌靶点 KEGG 信号通路富集分析(前20位)
Table 4 KEGG pathway of anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma*(TOP 20)

编号	名称	注释基因数	P值
1	Pathways in cancer	16	3.41×10^{-10}
2	Progesterone-mediated oocyte maturation	9	1.04×10^{-8}
3	Epstein-Barr virus infection	8	1.35×10^{-6}
4	Sphingolipid signaling pathway	8	2.73×10^{-6}
5	Small cell lung cancer	7	4.21×10^{-6}
6	Prostate cancer	7	5.55×10^{-6}
7	Estrogen signaling pathway	7	8.70×10^{-6}
8	Hepatitis B	8	1.24×10^{-5}
9	Colorectal cancer	6	2.13×10^{-5}
10	Neurotrophin signaling pathway	7	3.21×10^{-5}
11	Osteoclast differentiation	7	3.70×10^{-5}
12	Proteoglycans in cancer	8	6.23×10^{-5}
13	Hepatitis C	7	6.58×10^{-5}
14	Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	5	1.32×10^{-4}
15	TNF signaling pathway	6	1.78×10^{-4}
16	Regulation of lipolysis in adipocytes	5	1.93×10^{-4}
17	Chagas disease (American trypanosomiasis)	6	2.05×10^{-4}
18	VEGF signaling pathway	5	2.53×10^{-4}
19	Thyroid hormone signaling pathway	6	2.89×10^{-4}
20	PI3K-Akt signaling pathway	9	3.50×10^{-4}

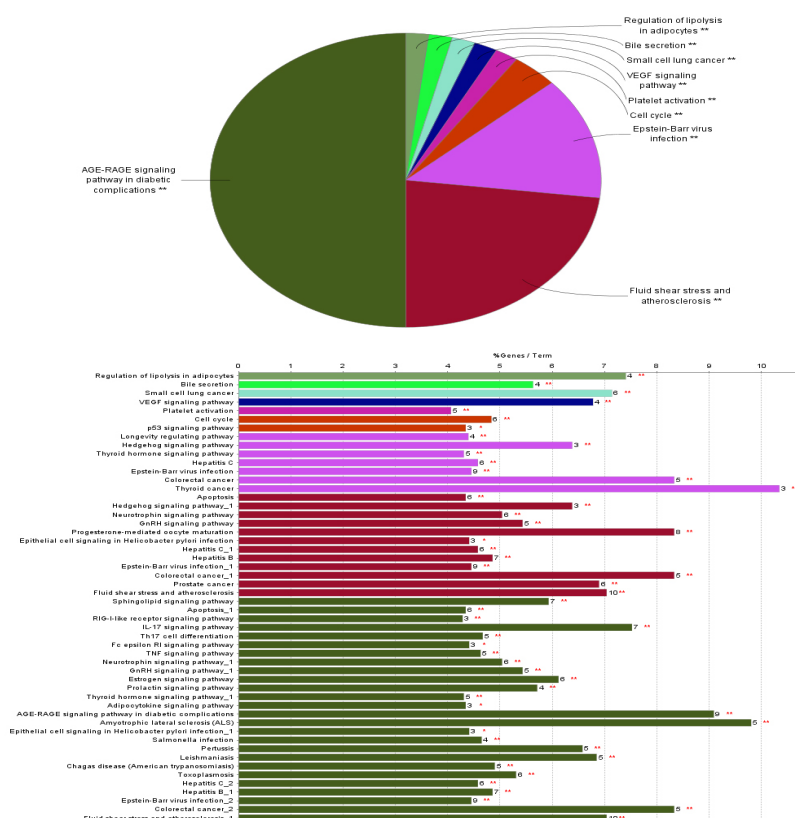


图7 KEGG 信号通路富集分析
Fig. 7 KEGG pathway enrichment analysis

表5 干姜抗肺癌靶点 GO 生物过程富集分析(前 20 位)

Table 5 GO biological process of anti-cancer targets of *Zingiberis Rhizoma*(TOP 20)

编号	名称	注释基因数	P 值
1	positive regulation of nitric oxide biosynthetic process	3	0.001 258
2	embryo implantation	3	0.002 061
3	lipopolysaccharide-mediated signaling pathway	3	0.002 244
4	negative regulation of apoptotic process	5	0.002 358
5	positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	7	0.002 630
6	transcription, DNA-templated	5	0.003 725
7	regulation of blood pressure	3	0.003 732
8	peptidyl-serine phosphorylation	4	0.003 793
9	protein autophosphorylation	4	0.004 531
10	activation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process	3	0.005 569
11	regulation of cell proliferation	4	0.005 727
12	cyclooxygenase pathway	2	0.005 896
13	positive regulation of translational initiation by iron	2	0.005 896
14	positive regulation of guanylate cyclase activity	2	0.008 832
15	regulation of cytokine production involved in inflammatory response	2	0.008 832
16	positive regulation of fever generation	2	0.008 832
17	nitric oxide biosynthetic process	2	0.014 677
18	positive regulation of brown fat cell differentiation	2	0.014 677
19	arginine catabolic process	2	0.014 677
20	positive regulation of protein kinase B signaling	3	0.014 775

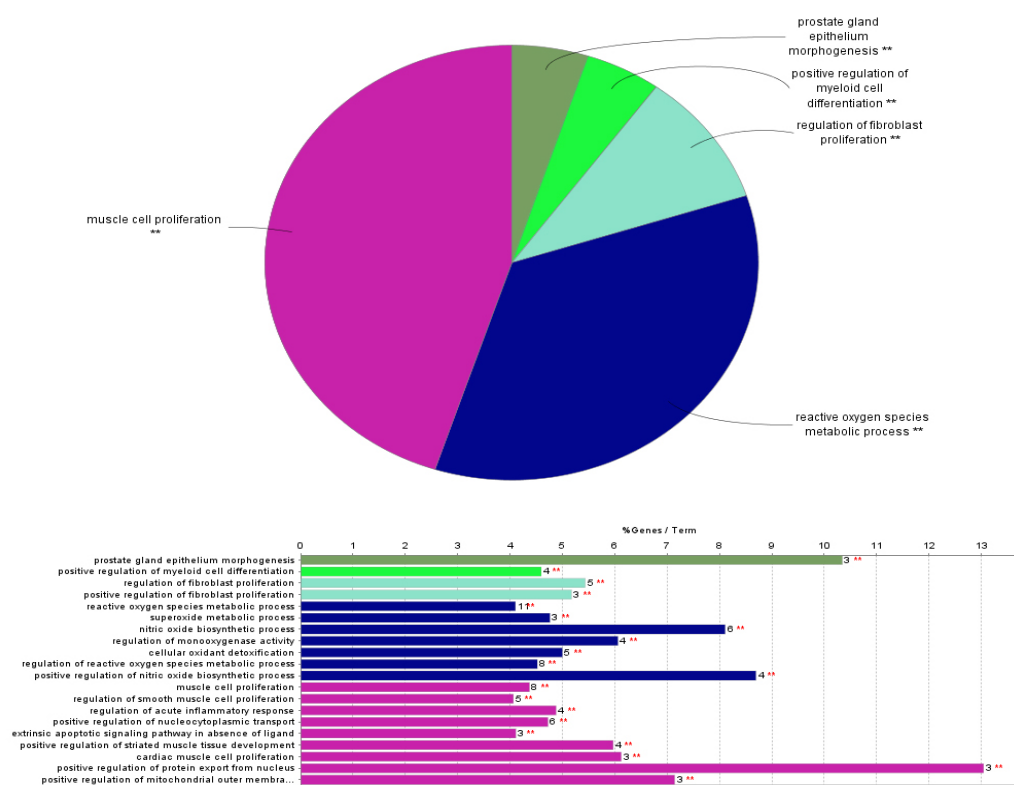
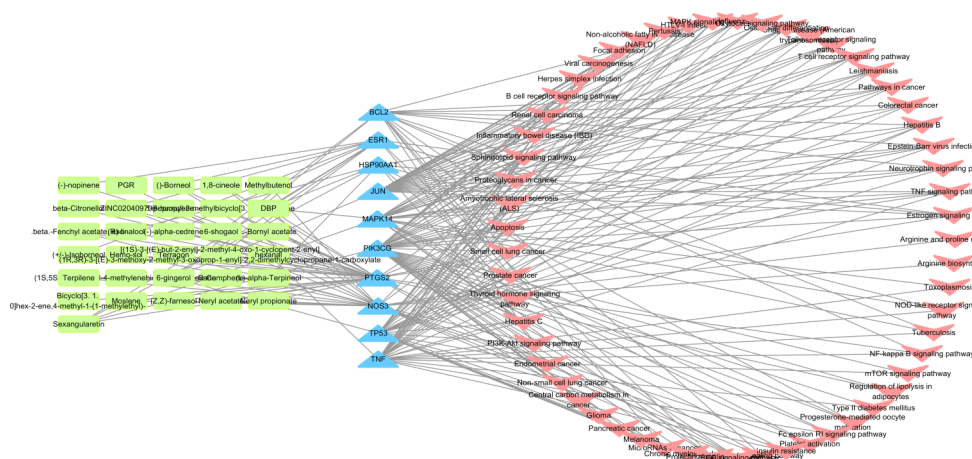


图8 GO生物过程分析

Fig.8 GO biological process enrichment analysis



绿色表示干姜活性成分,蓝色表示核心抗癌靶点,红色表示代谢通路

Green is the active ingredient of *Zingiberis Rhizoma*, blue is the core anti-cancer target, red is the metabolic pathway

图9 干姜活性成分-核心抗癌靶点-代谢通路网络图

Fig.9 Active ingredients-key anticancer targets-KEGG pathway network of *Zingiberis Rhizoma*

靶点中,TP53基因为著名的“抑癌基因”,其编码的p53蛋白可调控细胞分裂和增殖,而大多数肿瘤均存在TP53基因的突变^[28]。Silwal-Pandit等^[29]报道TP53的高频突变是乳腺癌和卵巢癌的早期起始阶段和驱动发展的关键。Knirsh等^[30]报道miR-10b通过RhoC和NF1激活c-Jun的异常表达促进乳腺癌细胞迁移和侵袭。Semba等^[31]的研究证明沉默PIK3CG基因可以抑制PI3K-Akt/PKB信号,从而抑制结肠癌的形成和发展。

为了分析干姜抗癌靶点所涉及的信号通路和生物过程,本研究对干姜的抗癌靶点进行了KEGG信号通路和GO生物过程富集分析。KEGG信号通路富集分析得到与干姜抗癌作用相关的信号通路有68条,主要涉及到小细胞肺癌、前列腺癌、大肠癌、甲状腺癌、病毒性癌变、子宫内膜癌、非小细胞肺癌、胰腺癌等多种癌症,以及与癌症发病机制密切相关的信号通路如TNF信号通路、VEGF信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、Wnt信号通路、HIF-1信号通路、AMPK信号通路、p53信号通路等。Zhang等^[32]研究证明VEGF-A/NRP-1信号通路可以赋予肿瘤干细胞的相关形状及其化学抗性。Ajduković报道,HIF-1信号通路介导的生物学效应有利于肿瘤的演进,包括糖酵解过程、细胞活性氧物质的产生、改变抑癌基因的表达等,还可诱导EMT转化过程和某些对癌症进展至关重要的microRNA的上调^[33]。Wei等^[34]研究证明,Wnt信号

通路中的Wnt-11高表达可导致JNK-1磷酸化,并通过激活Wnt/JNK信号通路显著促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移,并表示Wnt-11可作为治疗宫颈癌的新靶点。GO生物过程富集分析发现干姜抗癌靶点涉及到了氧化氮生物合成、细胞增殖与凋亡、蛋白质自磷酸化、COX途径、炎症反应、过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路、活性氧代谢等35生物过程,这些生物过程均与癌症的发生和发展有关,体现了干姜具有多成分-多靶点-多途径抗癌作用的特点^[35-37]。以上关于干姜中有效活性成分的报道均与本研究中所预测的干姜抗癌靶点与KEGG信号通路富集分析和GO生物过程富集分析所得结果基本一致。

癌症的发生和发展是一个极其复杂的过程,涉及到多基因与多个信号通路^[38]。干姜所含的活性成分繁多,这使得干姜的抗癌作用机制研究愈加困难。本研究结合“类药五原则”与OB $\geq$ 30%,利用TCMSP数据库、UniProt数据库、Cytoscape 3.2.1软件及其插件、Genecards数据库、String数据库、DAVID数据库等工具,首次运用网络药理学的方法报道了干姜的抗癌作用机制,成功预测了干姜的主要活性成分、抗癌靶点及与其产生抗癌作用相关的信号通路和生物过程,初步分析了干姜产生抗癌作用可能的药效物质基础及分子机制。网络药理学是中药活性成分开发利用的一个强大工具,然而中药成分的发现需要不断积累,现有数据库中的数据

也在不断更新、完善,准确性有待加强。本研究单纯从网络药理学角度预测了干姜的活性成分及抗癌作用机制,存在一定的局限性,研究结果仍需通过实验加以证明。

参考文献

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2015.
- [2] 孙凤娇,李振麟,钱士辉,等. 干姜化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2015, 34(3): 34-37.
- [3] 元雪,张颖颖. 干姜的化学、药理研究进展[J]. 山东化工, 2018, 47(14): 41-42.
- [4] 胡亚洁,赵晓锦,宋咏梅,等. 基于网络药理学的中药复方研究探讨[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(6): 1400-1402.
- [5] 邓桂明,向彪,肖小芹,等. 基于网络药理学的乌药主要化学成分药效作用研究[J]. 中草药, 2018, 49(21): 180-188.
- [6] Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: theory, methodology and application [J]. Chin J Nat Med, 2014, 11(2): 110-120.
- [7] 解静,高杉,李琳,等. 网络药理学在中药领域中的研究进展及应用策略[J]. 中草药, 2019, 50(10): 2257-2265.
- [8] Assenov Y, Ramírez F, Schelhorn S, et al. Computing topological parameters of biological networks [J]. Bioinformatics, 2008, 24(2): 282-284.
- [9] Liu W D, Zhai Y J, Heng X Y, et al. Oral bioavailability of curcumin: problems and advancements [J]. J Drug Target, 2016, 24(8): 694-702.
- [10] Ray A, Vasudevan S, Sengupta S. 6-shogaol inhibits breast cancer cells and stem cell-like spheroids by modulation of notch signaling pathway and induction of autophagic cell death [J]. Plos One, 2015, 10(9): e0137614. DOI:10.1371/journal.pone.0137614.
- [11] Geng S N, Zheng Y Q, Meng M J, et al. Gingerol reverses the cancer-promoting effect of capsaicin by increased TRPV1 level in a urethane-induced lung carcinogenic model [J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(31): 6203-6211.
- [12] 侯仁好,初晓艺,刘希双. 胃管状腺癌组织中Fos和Jun蛋白表达及临床意义[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2006, 13(24): 1860-1862.
- [13] Zhang S, Chung W C, Wu G, et al. Manic fringe promotes a claudin-low breast cancer phenotype through notch-mediated PIK3CG induction [J]. Cancer Res, 2015, 75(10): 1936-1943.
- [14] Bartels S, Christgen M, Luft A, et al. Estrogen receptor (ESR1) mutation in bone metastases from breast cancer [J]. Mod Pathol, 2018, 31(1): 56-61.
- [15] Soderquist R S, Eastman A. BCL2 inhibitors as anticancer drugs: A plethora of misleading BH3 mimetics [J]. Mol Cancer Ther, 2016, 15(9): 2011-2017.
- [16] Paillas S, Causse A, Marzi L, et al. MAPK14/p38 α confers irinotecan resistance to TP53-defective cells by inducing survival autophagy [J]. Autophagy, 2012, 8(7): 1098-1112.
- [17] Kunzmann A T, Murray L J, Cardwell C R, et al. PTGS2 (cyclooxygenase-2) expression and survival among colorectal cancer patients: A systematic review [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2013, 22(9): 1490-1497.
- [18] Coskunpinar E, Akkaya N, Yildiz P, et al. The significance of HSP90AA1, HSP90AB1 and HSP90B1 gene polymorphisms in a Turkish population with non-small cell lung cancer [J]. Anticancer Res, 2014, 34(2): 753-757.
- [19] Chen Y, Li J, Guo Y, et al. Nitric oxide synthase 3 gene variants and colorectal cancer: a meta-analysis [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(8): 3811-3815.
- [20] 吴江峰,许燕妮,丁舸. 干姜、细辛、五味子治寒饮咳嗽作用探析[J]. 国医论坛, 2018, 33(2): 16-18.
- [21] 王文心. 干姜的化学、药理及临床应用特点分析[J]. 中医临床研究, 2016, 8(6): 146-148.
- [22] 王红芯,应光耀,孔维军,等. 生姜及其炮制品中姜辣素的研究进展[J]. 中南药学, 2017, 15(3): 324-328.
- [23] 曾慧兰,韩新爱,古晨,等. 6-姜酚诱导K562细胞凋亡的差异蛋白表达[J]. 中药材, 2010, 33(5): 753-758.
- [24] de Lima R M T, dos Reis A C, de Menezes A A P M, et al. Protective and therapeutic potential of ginger (Zingiber officinale) extract and [6]-gingerol in cancer: A comprehensive review [J]. Phytother Res, 2018, 32(10): 1885-1907.
- [25] 王宇锋,孙游,李海,等. 6-姜烯酚诱导人结肠癌细胞HT29凋亡及与VEGFR2表达变化的关系[J]. 现代食品科技, 2018, 34(11): 1-7.
- [26] 赵行宇,侯以森,刘雅范,等. 6-姜烯酚诱导胃癌BGC-823细胞凋亡及其机制研究[J]. 上海中医药杂志, 2018, 52(2): 84-88.
- [27] Qi L W, Zhang Z Y, Zhang C F, et al. Anti-colon cancer effects of 6-shogaol through G2/M cell cycle arrest by p53/p21-cdc2/cdc25A crosstalk [J]. Am J Chin Med, 2015, 43(4): 743-756.
- [28] Soussi T, Wiman K G. TP53: an oncogene in disguise [J]. Cell Death Differ, 2015, 22(8): 1239-1249.
- [29] Silwal-Pandit L, Langerød A, Børresen-Dale A. TP53 mutations in breast and ovarian cancer [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2017, 7(1): a026252.
- [30] Knirsh R, Ben-Dror I, Modai S, et al. MicroRNA 10b promotes abnormal expression of the proto-oncogene c-Jun in metastatic breast cancer cells [J]. Oncotarget, 2016, 7(37): 59932-59944.

(下转第1748页)

- [14] 沈丽莎, 彭文芳, 夏莉莉, 等. 2型糖尿病肾病患者血清 Kim-1、尿 NAG、AGT 水平的表达及临床意义 [J]. 实用预防医学, 2018, 25(10): 1252-1255.
- [15] 刘亚丽, 熊贤兵, 苏丹, 等. 丰城鸡血藤中刺芒柄花素的大鼠肠吸收研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(20): 3571-3575.
- [16] 张蕾, 任中海, 薛永飞. 刺芒柄花素对老年晚期肺癌患者胸水及血清中内皮抑素、VEGF、MMP-2、bFGF 及肿瘤标志物的影响 [J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(8): 154-157.
- [17] 杨勤兴, 马春霞, 陆成龙, 等. 梯度浓度顺铂处理对6种肿瘤细胞中 CASP9 的 mRNA 选择性剪接的影响 [J]. 贵州医科大学学报, 2017, 42(9): 1003-1009.
- [18] 徐明义, 郑艳秋, 孙娟, 等. 头颈部鳞癌中 TP53 基因的调控网络分析 [J]. 局解手术学杂志, 2016, 25(12): 863-867.
- [19] Leroy B, Girard L, Hollestelle A, et al. Analysis of TP53 mutation status in human cancer cell lines: A reassessment [J]. Hum Mutat, 2014, 35(6): 756-765.
- [20] 宁巧明, 欧阳碧山, 张慧君, 等. 血管生成素-1 和 TNF- α 在先天性肺动脉高压发病机制中的作用 [J]. 海南医学, 2018, 29(19): 2682-2684.
- [21] 刘莲, 易宋, 梁官丽. ROS、IL-6、VCAM-1 在 RA 患者血清中的表达及意义 [C]// 2017 中国医院药学杂志学术年会. 2017.
- [22] 王勇, 郭永连, 陈琳, 等. miR-1180-5p 通过激活 CDKN1A 基因表达抑制前列腺癌细胞增殖迁移和侵袭 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(7): 698-703.
- [23] 许珍林. COC 暴露及 ESR2 基因多态性与女性脑卒中发病风险的关联研究 [D]. 南京: 南京医科大学, 2016.
- [24] 李艳梅, 王刚, 黄志, 等. 细胞色素氧化酶 CYP3A4 基因多态性研究进展 [J]. 儿科药学杂志, 2011, 17(6): 49-52.
- [25] 刘鑫旭, 吴嘉瑞, 蔺梦娟, 等. 基于网络药理学的吴茱萸汤作用机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(16): 203-210.
-
- (上接第1740页)
- [31] Semba S, Itoh N, Ito M, et al. Down-regulation of PIK3CG, a catalytic subunit of phosphatidylinositol 3-OH kinase, by CpG hypermethylation in human colorectal carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(12): 3824-3831.
- [32] Zhang L S, Wang H M, Li C H, et al. VEGF-A/neuropilin 1 pathway confers cancer stemness via activating wnt/ β -catenin axis in breast cancer cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(3): 1251-1262.
- [33] Ajdukovic J. Hif-1: a big chapter in the cancer tale [J]. Exp Onc, 2016, 38(1): 9-12.
- [34] Wei H, Wang N, Zhang Y, et al. Wnt-11 overexpression promoting the invasion of cervical cancer cells [J]. Tumor Biol, 2016, 37(9): 11789-11798.
- [35] Tran A N, Boyd N H, Walker K, et al. NOS expression and NO function in glioma and implications for patient therapies [J]. Antioxid Redox Signal, 2017, 26(17): 986-999.
- [36] Cheng C, Chang J, Huang S C C, et al. YM155 as an inhibitor of cancer stemness simultaneously inhibits autophosphorylation of epidermal growth factor receptor and G9a-mediated stemness in lung cancer cells [J]. Plos One, 2017, 12(8): e0182149. DOI: 10.1371/journal.pone.0182149.
- [37] Yu T T, Lao X Z, Zheng H. Influencing COX-2 activity by COX related pathways in inflammation and cancer [J]. Mini - Rev Med Chem, 2016, 16(15): 1230-1243.
- [38] 洪梓德, 莫志贤. 中药抗肿瘤机制中的 11 种信号通路 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21): 205-218.