

基于网络药理学和分子对接的半夏泻心汤治疗慢性萎缩性胃炎作用机制探讨

朱俊霞¹, 史佩玉¹, 綦向军¹, 许洪彬², 方彩珊¹, 陈国铭¹, 莫嘉浩², 张 鹏¹, 刘凤斌^{3*}

1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405

2. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东 广州 510405

3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510000

摘要: **目的** 运用网络药理学方法研究半夏泻心汤治疗慢性萎缩性胃炎(CAG)的作用机制。**方法** 运用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)获取半夏泻心汤化合物及靶标,以口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18为阈值进行化合物筛选,将靶标输入Uniprot获取靶标对应的基因Symbol;从人类基因数据库(Gene Card: The Human Gene Database)获取CAG疾病基因,并筛选出与半夏泻心汤靶标基因的交集基因;运用Cytoscape3.7.1软件绘制“疾病-中药-化合物-交集靶标(基因)”网络图、STRING构建蛋白互作(PPI)网络、利用分子对接技术对关键靶点和化合物的相互作用进行验证。G:Profiler数据分析平台进行GO富集以及KEGG通路富集分析。**结果** 通过设置OB和DL值筛选得到半夏泻心汤化合物189种,在获得交集基因80个后,剔除不含交集基因(靶标)的化学成分后,最终筛得化合物148种,GO富集分析后共获得符合筛选标准的条目1188条,其中分子功能59条、生物过程1086条、细胞组成43条,KEGG富集分析共获得97条。槲皮素、黄芩素、汉黄芩素、小檗碱等为半夏泻心汤的主要活性成分,STAT3、TNF、AKT1、HSP90AA1、TP53等为主要作用靶标。分子对接结果显示,筛选的化合物和核心靶点HSP90AA1、潜在靶点EGFR之间均能较好的结合,涉及氮化合物的代谢、氧化反应、细胞凋亡等生物过程,调控PI3K-Akt信号通路、IL-17信号通路、胃癌通路、幽门螺旋杆菌感染的上皮细胞通路。**结论** 半夏泻心汤的主要活性成分有槲皮素、黄芩素、汉黄芩素、小檗碱,通过多靶点多通路发挥治疗慢性萎缩性胃炎作用。

关键词: 半夏泻心汤; 慢性萎缩性胃炎; 分子对接; 作用机制; 网络药理学; 槲皮素; 黄芩素; 汉黄芩素; 小檗碱; HSP90AA1; EGFR

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)01-0098-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.01.013

Mechanism of Banxia-Xiexin Decoction in treatment of chronic atrophic gastritis on network pharmacology and molecular docking

ZHU Junxia¹, SHI Peiyu¹, QI Xiangjun¹, XU Hongbin², FANG Caishan¹, CHEN Guoming¹, MO Jiahao², ZHANG Peng¹, LIU Fengbin³

1. The First Clinical College of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China

2. The Second Clinical College of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China

3. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510000, China

Abstract: Objective To study on the mechanism of Banxia-Xiexin Decoction in the treatment of chronic atrophic gastritis on network pharmacology. **Methods** The compound and target of Banxia-Xiexin decoction were obtained by Traditional Chinese

收稿日期: 2020-03-18

基金项目: 2020年广东省科技创新战略专项资金立项项目(pdjh2020b0140);广东省中医药局建设中医药强省专项资金中医优势病种突破项目(粤中医函[2015]19号);广东省自然科学基金项目(2017A030310121);广州中医药大学学科研究重大项目(A1-2606-19-110-007);中医药行业科研专项项目(201507001-09);广州中医药大学第一附属医院“创新强院”创新科研团队项目(2017TD05);广州中医药大学一流学科研究重点项目(A1-AFD018191A16);广州中医药大学第一附属医院“创新强院”青年科研人才培优项目(2015QN09)

第一作者: 朱俊霞,女,在读本科,从事中医学研究。Tel:13265176067 E-mail: 871911034@qq.com

***通信作者:** 刘凤斌,博士,教授,主任医师,博士生导师,从事中医药临床疗效的合理评价、中医药调控胃癌前病变“炎-癌”转化的机制、中医药干预肠道微生态特征相关的肠道免疫的机制研究。Tel:13694239909 E-mail: liufb163@vip.163.com

Medicine Systems Pharmacology(TCMSP) analysis platform database. The compound was screened by oral bioavailability (OB) $\geq 30\%$ and drug-like property (DL) ≥ 0.18 as thresholds, and The target was input into Uniprot to obtain the gene Symbol;The disease target genes of chronic atrophic gastritis were obtained from Gene Card: The Human Gene Database, and screening intersection genes with Banxia-Xiexin decoction target genes; The network diagram of "disease-traditional Chinese medicine-compound-intersection target (gene)" was drawn by Cytoscape 3.7.1 software. The protein-protein interaction relationships were constructed by STRING database. Molecular docking technology were used to verify the interactions between core targets and compounds.GO enrichment and KEGG pathway enrichment were analyzed by g:Profiler data analysis platform. **Results** 189 compounds of Banxia-Xiexin Decoction were screened by setting OB and DL values. After obtaintion of 80 intersection genes, 148 compounds were finally screened by eliminating chemical components without intersection genes (targets). A total of 1 188 items were screened through the GO enrichment analysis, including 59 molecular functions, 1086 biological processes, 43 cellular components. And 97 items were obtained by KEGG enrichment analysis. Quercetin,baicalein,wogonin and berberine are the main active components of Banxia Xiexin decoction.STAT3,TNF,AKT1,HSP90AA1,TP53 are the main targets.The results of molecular docking showed that the screened compounds could bind well with the core target HSP90AA1 and the potential target EGFR. The nitrogen metabolism, oxidation reaction,cell apoptosis and other biological processes are biological processes involved.PI3K-Akt signal pathway,IL-17 signal pathway, gastric cancer pathway, epithelial cell signaling in helicobacter pylori infection pathway are main regulation pathways. **Conclusions** This study provide certain reference for further study on the mechanism of Banxia-Xiexin decoction in treating CAG.

Key words: Banxia-Xiexin Decoction; chronic atrophic gastritis; molecular docking; mechanism; network pharmacology; quercetin; baicalein; wogonin; berberine; HSP90AA1; EGFR

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)属慢性胃炎的一种,以胃黏膜萎缩变薄,黏膜腺体减少或消失并伴有肠上皮化生,固有层内多量淋巴细胞、浆细胞为特点,肠上皮化生过程中若出现异常增生,可导致胃癌的发生^[1]。Correa P等提出了肠型胃癌的发病机制,即Correa's级联:非萎缩性胃炎→多灶萎缩性胃炎伴化生→完整的肠上皮化生→不完整的肠上皮化生→不典型性增生^[2],萎缩性胃炎在10年内进展为胃癌的概率为0.8%^[3],采取有效的措施阻断Correa's级联对于预防胃癌的发生具有重要的意义^[4]。

半夏泻心汤首载于张仲景所著《伤寒论》,原用于小柴胡汤证误下成痞,现常用于急慢性胃炎、幽门螺杆菌相关性胃炎、消化性溃疡等,尤其在CAG的治疗上,已有大量的循证医学证据表明半夏泻心汤具有确切的疗效,廖伟琳等^[5]对半夏泻心汤治疗CAG的临床随机对照试验进行了Meta分析,结果表明与对照组相比,半夏泻心汤有效率高于对照组,并且可以改善腺体萎缩情况,促进幽门螺杆菌转阴;杨晋翔等^[6]进行了相同的研究,结果表明半夏泻心汤加减方在临床和胃镜疗效上优于对照组。针对半夏泻心汤治疗CAG的宏观临床疗效研究已较为全面,但目前对其药理学研究大多局限于某一靶点或某一通路的调节,与中医方剂多靶点多通路的调节机制不符,故本研究拟运用网络药理学的方法对其作用机制进行全面的,为后续研究的开

展提供依据。

1 资料与方法

1.1 半夏泻心汤化合物与靶标获取

运用中药系统药理学数据库和分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, <https://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)分别查找半夏、黄连、黄芩、干姜、人参、甘草、大枣,获取相应的化合物。以口服利用度(oral bio-availability,OB) $\geq 30\%$,类药性(drug likeness,DL) ≥ 0.18 为条件进行化合物筛选,并运用TCMSP查找筛选所得化合物对应的靶标信息,将所得靶标信息输入Uniprot(<https://www.uniprot.org/>)获取靶标对应的基因Symbol。

1.2 CAG疾病基因获取

以“chronic atrophic gastritis”为关键词从GeneCards: The Human Gene Database获取CAG疾病基因,与半夏泻心汤靶标基因对比后筛选出二者之间的交集基因。

1.3 构建“疾病-中药-化合物-交集靶标(基因)”网络图

获取交集基因后,对化合物进行反向筛选,剔除靶标基因中不含交集基因的化合物,运用Cytoscape3.7.1软件绘制“疾病-中药-化合物-交集靶标(基因)”网络图,根据软件所提供的“network analyzer”板块进行网络拓扑学分析。

1.4 蛋白网络互作(PPI)图构建

将所得交集基因输入 STRING(<https://string-db.org/>)数据分析平台进行 PPI 分析,数据分析模式设定为“Multiple proteins”,物种限制为“Homo sapiens”。对数据进行预读后将置信度设置为 ≥ 0.90 ,并隐藏孤立蛋白,导出 TSV 文件。最后运用 Cytoscape 3.7.1 软件绘制 PPI 图,再使用软件所提供的“network analyzer”板块进行网络拓扑学分析,依据度值和介度中心性,获得核心蛋白。

1.5 GO富集以及KEGG通路富集分析

运用 g: Profiler(<https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost>)数据分析平台进行基因本体(Gene Ontology, GO)富集分析以及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,将物种限制为“Homo sapiens”,采用 g:SCS 算法进行 P 值的校正, g:SCS 算法是由 g:Profile 团队所开发的用于计算 GO 和 KEGG 富集分析所得 P 值的多重测试校正方法,与 Bonferroni 校正以及 False Discovery Rate 等校正方法相比,该算法考虑到了每个生物体术语注释下的潜在基因集合结构,提供了一个更为严谨的阈值^[7],筛选校正后 $P < 0.05$ 的富集结果。运用 Microsoft Excel 2010 软件进行数据可视化以及 R 软件绘制靶标-通路干预机制图。

1.6 分子对接

基于“疾病-中药-化合物-交集靶标(基因)”网络图的网络拓扑学分析结果,选取度值、介度中心性同时满足排名前 5 的化合物及前 5 的交集靶标,然后对核心靶点及潜在靶点与所筛选出的化合物进行分子对接。首先在 TCMSP 网站下载化合物结构文件,经 AutoDockTools(v1.5.6)加极性氢、分配电荷、设置可旋转键后保存为“pdbqt”格式文件;利用 PDB(<https://www.rcsb.org/pdb/>)蛋白数据库中获取相应蛋白的 PDB-ID 并下载含有原配体的靶蛋白三维结构,若该数据库无相应人源蛋白结构,则利用 SWISS-MODEL(<https://swissmodel.expasy.org/>)

进行同源建模获取该靶蛋白三维结构。利用 PyMol(v2.3.0)将靶蛋白和原始配体分离并去除水分子,然后将配体和受体导入 AutoDockTools(v1.5.6)加极性氢、分配电荷并保存为“pdbqt”格式文件;使用 AutoDock Vina 分子对接软件对半夏泻心汤中选取的度值、介度中心性同时满足排名前 5 的化合物和核心靶点、潜在靶点进行分子对接验证,评估半夏泻心汤治疗 CAG 的主要化合物与潜在核心靶点之间的结合潜力。

2 结果

2.1 半夏泻心汤化学成分及靶标筛选结果

以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件,共获得活性成分 211 种,去除重复成分后共 189 种,半夏 13 种,黄连 14 种,黄芩 36 种,干姜 5 种,甘草 92 种,人参 22 种,大枣 29 种,其中 22 种成分未能查询到对应的靶标数据。从 GeneCards 数据库共获得 CAG 疾病基因 491 种,与半夏泻心汤靶标进行对比后,获得交集基因 80 个,见图 1,剔除不含交集基因(靶标)的化学成分后,筛得相关化学成分 148 种,见表 1。其中半夏 10 种、黄连 8 种、黄芩 28 种、干姜 5 种、人参 15 种、大枣 15 种、甘草 86 种(部分成分重复),用于构建“疾病-中药-化合物-交集靶标(基因)”网络图,其中圆形节点代表交集基因(靶标),外围的四边形节点代表化合物在 TCMSP 数据库中的 MOL 编号,见图 2。

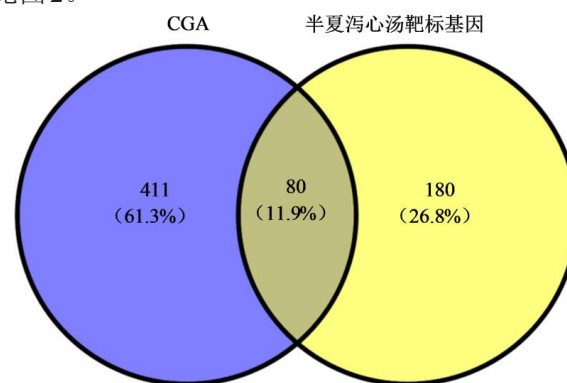


图1 “疾病基因-中药靶标基因”韦恩图

Fig. 1 Venn's diagram of disease gene-herbs target gene

表1 半夏泻心汤成分信息

Table 1 Components in Banxia-Xixin decoction

MOL 编号	化学成分	MOL 编号	化学成分	MOL 编号	化学成分
MOL000787	原阿片碱	MOL000497	甘草查耳酮 A	MOL004948	异甘草醇
MOL003648	山槐素	MOL000500	驴食草酚	MOL004949	异甘草黄酮醇
MOL005308	aposiopolamine	MOL001484	inermine	MOL004957	HMO
MOL005318	石竹胺	MOL001792	DFV	MOL004959	1-甲氧基菜豆素
MOL005320	花生四烯酸	MOL002565	美迪紫檀素	MOL004961	quercetin der.
MOL005321	灌木远志酮 A	MOL003656	黄羽扇豆魏特酮	MOL004966	3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin
MOL005344	人参皂苷	MOL003896	7-methoxy-2-methyl isoflavone		

续表1

MOL 编号	化学成分	MOL 编号	化学成分	MOL 编号	化学成分
MOL005356	吉九里香碱	MOL004328	柚皮素	MOL004974	3'-methoxyglabridin
MOL005384	苏齐内酯	MOL004805	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano[2,3-f]chromen-4-one	MOL004978	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol
MOL005399	alexandrin_qt			MOL004980	胀果香豆素甲
MOL002879	邻苯二甲酸二异辛酯	MOL004806	山根豆黄酮	MOL004988	kanzonol F
MOL000359	谷甾醇	MOL004808	粗毛甘草素B	MOL004989	6-prenylated eriodictyol
MOL000073	ent-epicatechin	MOL004810	粗毛甘草素F	MOL004990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin
MOL000173	汉黄芩素	MOL004811	粗毛甘草素C		
MOL000525	去甲汉黄芩素	MOL004814	Isotrifoliol	MOL004991	7-acetoxy-2-methylisoflavone
MOL000552	5,2'-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	MOL004815	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl)prop-2-en-1-one	MOL004993	8-prenylated eriodictyol
MOL001689	刺槐素			MOL005000	甘草宁G
MOL002909	5,7,2,5-tetrahydroxy-8,6-dimethoxyflavone	MOL004820	kanzonols W	MOL005001	甘草宁H
		MOL004824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	MOL005003	licoagrocargin
MOL002910	红花素			MOL005007	glyasperins M
MOL002913	dihydrobaicalin_qt	MOL004827	半甘草异黄酮B	MOL005008	glycyrrhiza flavonol A
MOL002914	eriodictiol (flavanone)	MOL004828	鳞叶甘草素A	MOL005012	licoagroisoflavone
MOL002915	鼠尾草素	MOL004829	鳞叶甘草素B	MOL005016	芳香膜菊素
MOL002917	5,2',6'-Trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone	MOL004833	菜豆异黄素	MOL005017	phaseol
MOL002925	5,7,2',6'-tetrahydroxyflavone	MOL004835	刺果甘草查尔酮	MOL005018	xambioona
MOL002927	黄芩黄酮II	MOL004838	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	MOL005020	dehydroglyasperins C
MOL002928	木蝴蝶素			MOL000098	槲皮素
MOL002932	panicolin	MOL004841	甘草查尔酮B	MOL000096	(-)-catechin
MOL002933	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone	MOL004848	甘草查尔酮G	MOL000492	(+)-catechin
MOL002934	黄芩新素	MOL004849	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	MOL000627	千金藤定碱
MOL002937	二氢木蝴蝶素			MOL001522	(S)-coclaurine
MOL008206	苏芥苧黄酮			MOL002773	β-胡萝卜素
MOL012245	5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyflavanone	MOL004855	甘草利酮	MOL007213	荷叶碱
		MOL004856	甘草宁A	MOL012921	光千金藤碱
MOL012266	半枝莲素	MOL004857	甘草宁B	MOL012976	拟雌内酯
MOL001458	黄连碱	MOL004863	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	MOL012992	mauritime D
MOL002897	表小檗碱			MOL000449	stigmaterol
MOL001454	小檗碱	MOL004864	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	MOL000358	beta-sitosterol
MOL000785	非洲防己碱			MOL002714	黄芩素
MOL002668	甲基黄连碱			MOL000519	松柏苷
MOL002903	(R)-Canadine	MOL004866	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl)chromone	MOL001755	24-ethylcholest-4-en-3-one
MOL002904	小檗浸碱			MOL002670	卡文定碱
MOL002464	1-单亚油精	MOL004879	格里西轮	MOL005030	gondoic acid
MOL002501	[(1S)-3-(E)-but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl (1R,3R)-3-[(E)-3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate	MOL004882	甘草香豆酮	MOL006936	10,13-eicosadienoic
		MOL004883	甘草异黄酮A	MOL006957	(3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl)piperazine-2,5-quinone
MOL002514	sexangularetin	MOL004884	甘草异黄酮B	MOL006967	beta-D-ribofuranoside, xanthine-9
MOL000422	山柰酚	MOL004885	甘草异黄酮酮	MOL000417	毛蕊异黄酮
MOL000211	mairin	MOL004891	shinpterocarpin	MOL004911	光甘草素
		MOL004898	(E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one	MOL004912	光甘草酮
				MOL004913	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone
		MOL004903	甘草黄苷	MOL004914	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone
		MOL004904	甘草吡喃香豆素		

MOL 编号	化学成分	MOL 编号	化学成分	MOL 编号	化学成分
MOL000239	jaranol	MOL004907	光甘草轮	MOL004915	eurycarpin A
MOL000354	异鼠李黄素	MOL004908	光甘草定	MOL004924	(-)-medicocarpin
MOL000392	刺芒柄花素	MOL004910	光甘草宁	MOL004945	(2 <i>S</i>)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chroman-4-one
MOL004935	乙形刺桐素B	MOL004941	(2 <i>R</i>)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one		

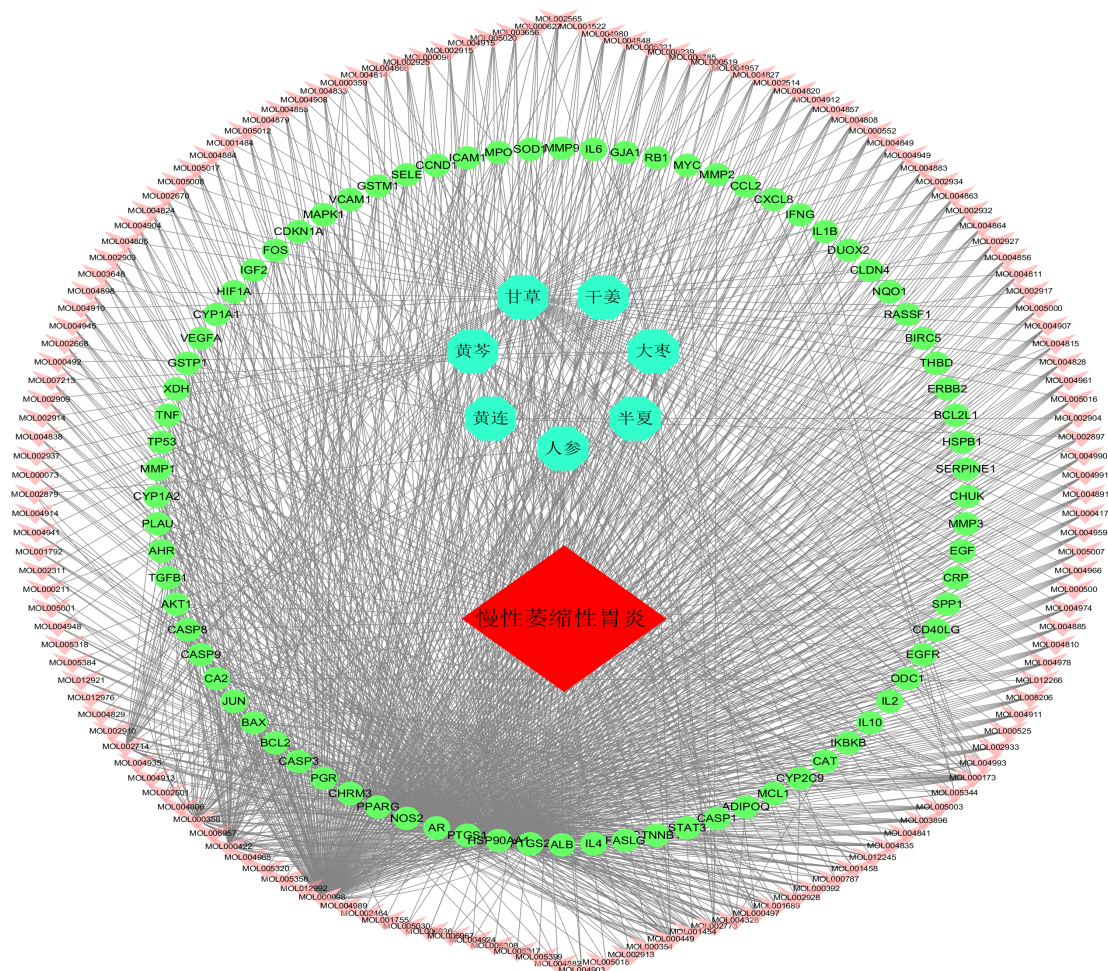


Fig. 2 Network diagram of "disease-traditional Chinese medicine-compound-intersection target (gene)"

将所得交集基因输入 STRING 数据分析平台,进行蛋白互作用分析后,再运用 Cytoscape 3.7.1 软件绘制 PPI 图,见图 3。网络图中包含 66 个节点,230 条边,图中圆形节点代表每个基因蛋白,边代表连接的 2 个蛋白有相互作用关系。然后按照度值、介度中心性的多少,得到互作关系排名前 5 的蛋白,为 STAT3、TNF、AKT1、HSP90AA1、TP53。

运用 g:Profiler 进行 GO 富集分析后共获得符合筛选标准的条目 1 188 条,其中分子功能(molecular Function, MF)59 条、生物过程(biological process, BP)1 086 条、细胞组成(cellular component, CC)43 条,按照所富集的基因数对其进行排序,各取基因数排列前 10 的条目进行可视化,图中条形的长度代表相应条目所富集基因数量,气泡大小代表校正后 P 以 10 为底的负对数,气泡面积越大,所对应的校正后 P 值越小,分别见图 4~6。

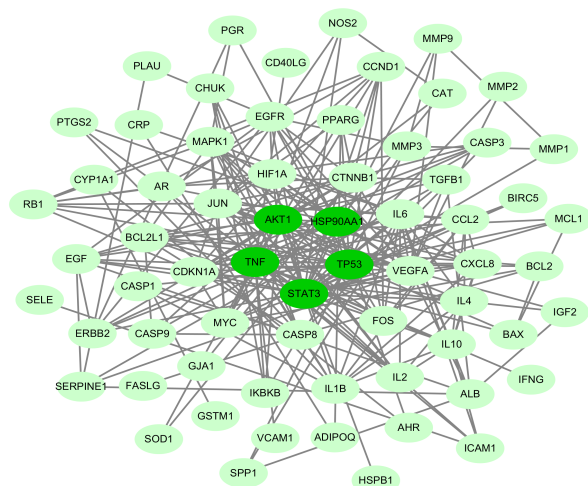


图3 PPI网络图

Fig. 3 PPI network diagram

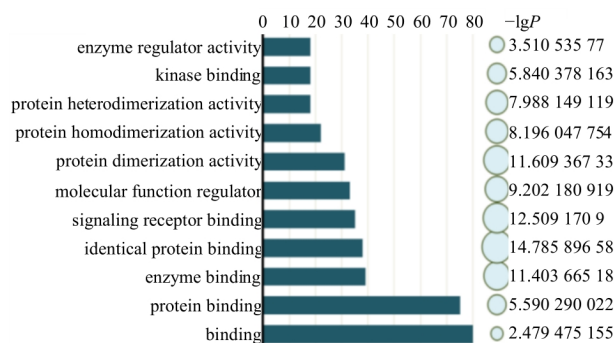


图4 GO-MF富集结果

Fig. 4 GO-MF enrichment results

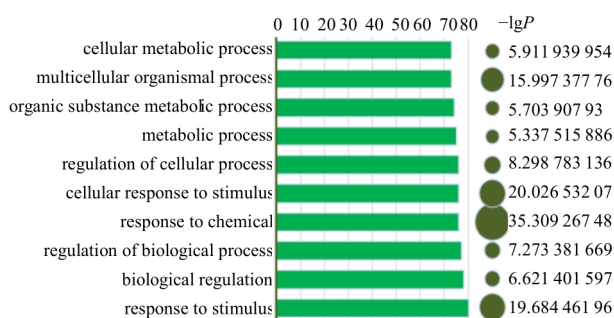


图5 GO-BP富集结果

Fig. 5 GO-BP enrichment results

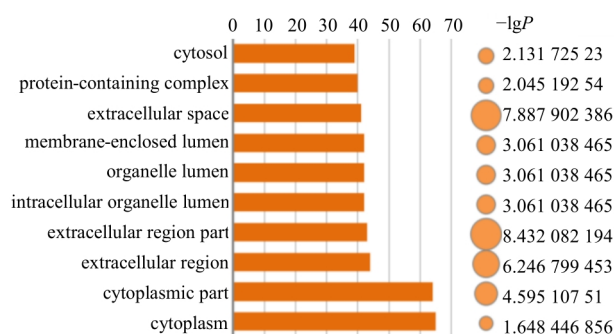


图6 GO-CC富集结果

Fig. 6 GO-CC enrichment results

2.4 KEGG富集结果

运用 g:Profiler 进行 KEGG 分析,共获得符合筛选标准的条目 97 条,按照所富集基因数进行降序排列,取基因数排列前 10 的条目进行可视化,此外,对 KEGG 结果进行预读后发现与 CAG 密切相关的通路有胃癌通路、幽门螺旋杆菌感染的上皮细胞通路,亦纳入图中,图中条形的长度代表相应条目所富集基因数量,气泡大小代表校正后 P 以 10 为底的负对数,气泡面积越大,所对应的校正后 P 值越小,见图 7。运用 R 软件加载 Bioconductor 包对胃癌通路、幽门螺旋杆菌感染的上皮细胞通路进行靶标-通路机制分析,图中红色标记代表半夏泻心汤可能进行干预的潜在靶点,见图 8、9。

2.5 分子对接结果

根据“疾病-中药-化合物-交集靶标(基因)”网络图中网络拓扑学分析结果显示,度值、介度中心性同时满足排名前 5 的化合物为汉黄芩素、槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇、黄芩素;前 5 的交集靶标为 PTGS2、PTGS1、NOS2、HSP90AA1、AR,将这 5 个重要的交集靶标继续与 PPI 网络互作图中的前 5 个核心蛋白取交集,最终获得核心靶点为 HSP90AA1。通过文献及上述 KEGG 结果可知幽门螺旋杆菌感染的上皮细胞通路中的潜在靶点 EGFR 与 CAG 关系紧密,故在此与核心靶点一起通过分子对接进行验证。

将半夏泻心汤治疗 CAG 的主要化合物和核心靶点、潜在靶点利用分子对接软件 AutoDock Vina 进行分子对接。该软件通过结合能来评估配体和受体的结合能力,即计算后拟合得到的 ΔG 值,结合能小于 0 表示配体与受体能够自发结合,值越小表示结合活性越高,药物越容易与受体结合^[8-9]。分子对接结果(表 2、3)显示,该核心靶点 HSP90AA1、潜在靶点 EGFR 与前 5 的化合物汉黄芩素、槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇、黄芩素都能较好结合。前 5 个化合物与核心靶点 HSP90AA1、潜在靶点 EGFR 的分子对接图分别见图 10、11。

图 10 中黄芩素与 HSP90AA1 的对接结合能最低,表明黄芩素与 HSP90AA1 结合活性最强,分子对接细节见图 10(E),黄芩素能稳定的结合在 HSP90AA1 的活性口袋上,通过残基 Asp93、Ser52、Asn51 形成氢键相互作用,与 Asn51 形成酰胺- π 作用,通过 Phf138 产生 π - π stacked 作用,通过 Met98、Leu107、Ala55 形成 π -烷作用,与残基 Val186、Thr184、Gly97、Ile96、Lys58、Gly135、Val136、Tyr139 形成范德华力。

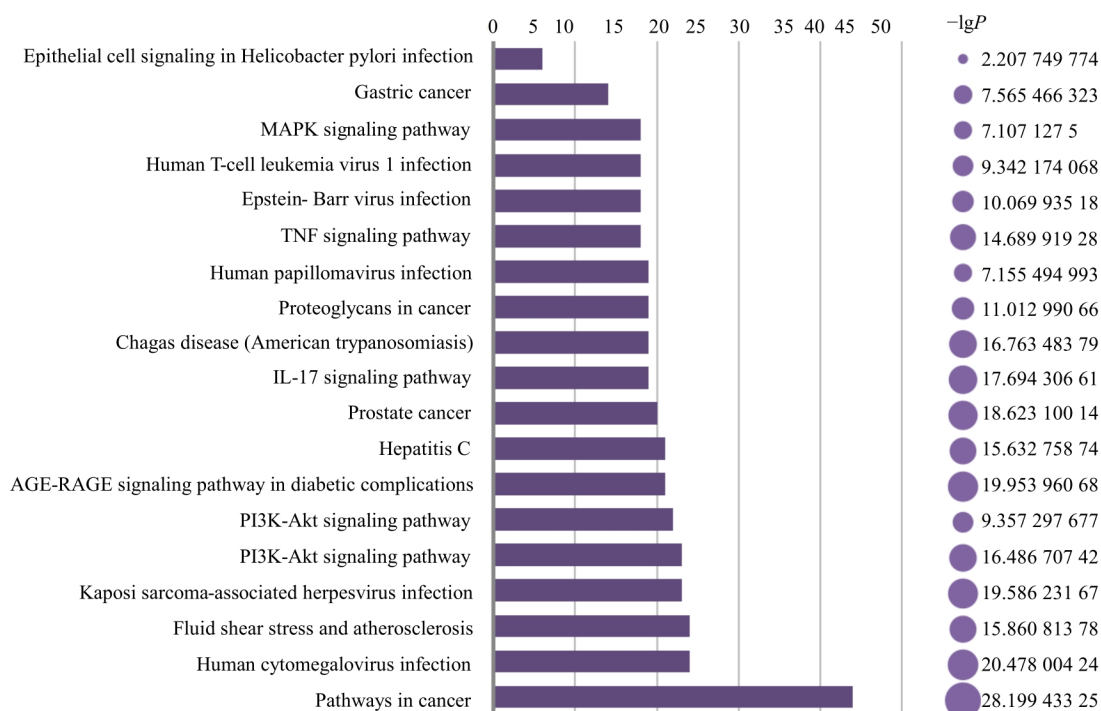


图7 KEGG通路富集结果

Fig. 7 KEGG pathway enrichment results

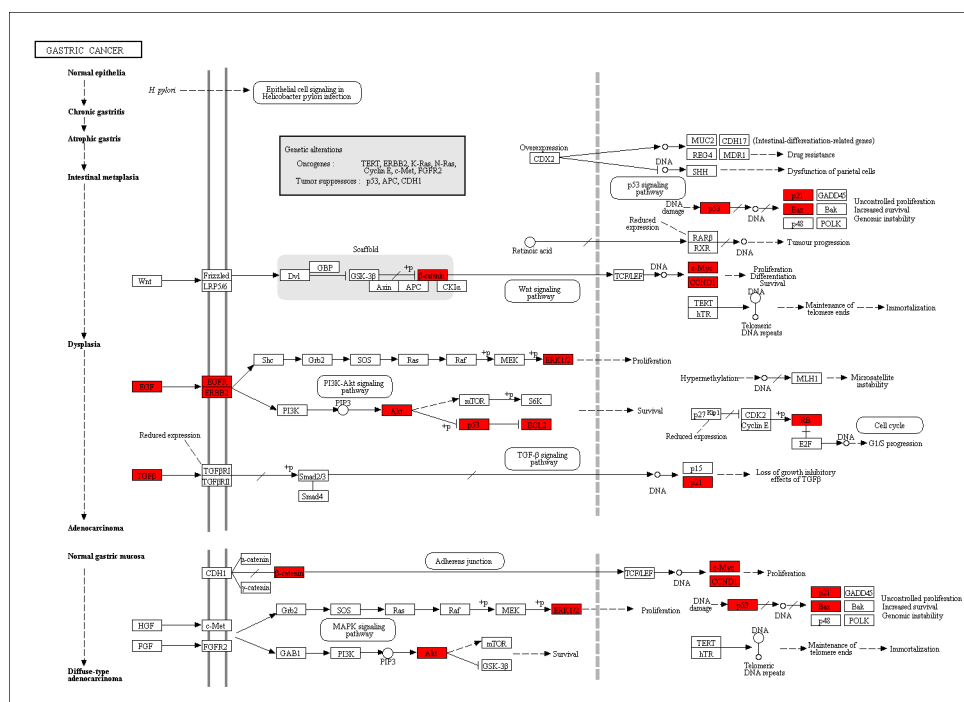


图8 胃癌通路

Fig. 8 Gastric cancer pathway

图11中β-谷甾醇与EGFR的对接结合能最低,表明β-谷甾醇与EGFR结合活性最强,分子对接细节见图11(D),发现黄芩素能稳定的结合在EGFR的活性口袋上,通过残基Thr830A形成氢键相互作用,通过Lys704B、Lys692B、Leu820A、Leu694A、Leu694B、Cys773A、Val702A产生烷基作用,与残基Val693B、

Pro770A、Phe771A、Asp776A、Met769A、Gly772A、Asp831A、Lys721A、Lys704A形成范德华力。

3 讨论

半夏泻心汤以半夏为君,散结除痞,臣以干姜辛温散寒;黄芩、黄连苦寒泻热开痞。二者相配伍,寒热平调,辛开苦降,又以人参、大枣、甘草补益中

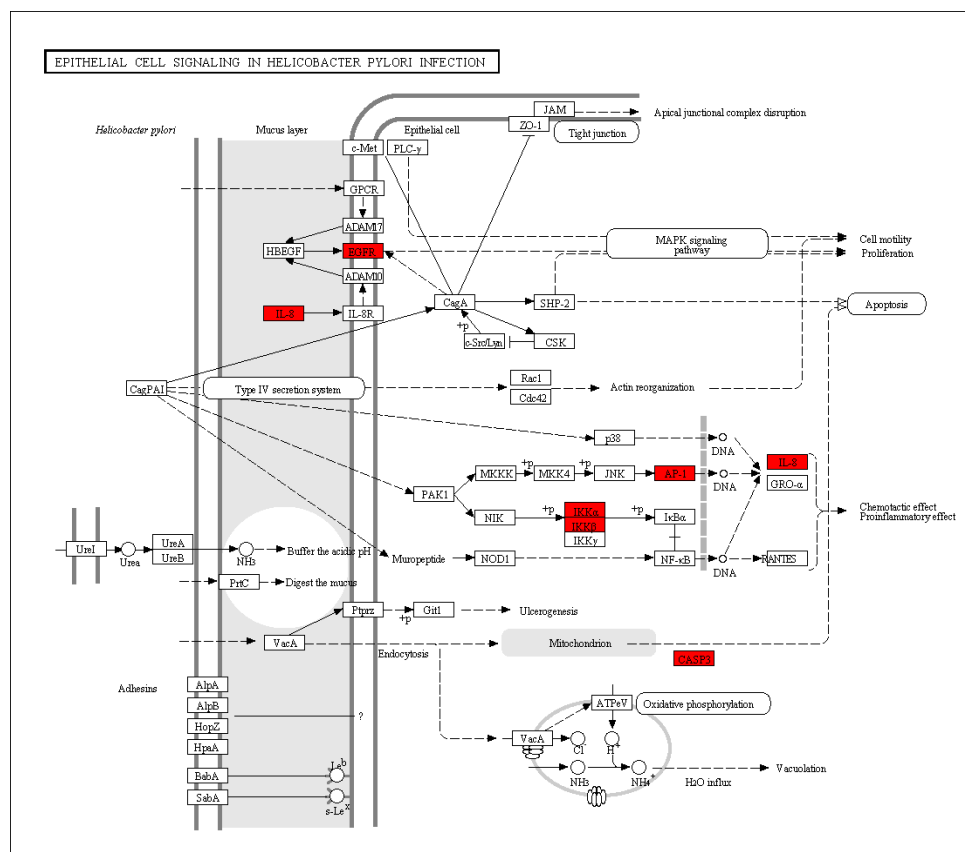


图9 幽门螺旋杆菌感染的上皮细胞通路

Fig. 9 Epithelial cell signaling in helicobacter pylori infection pathway

表2 前5的化合物及核心靶点分子对接

Table 2 Molecular docking of top five components and core target

化合物	靶点	结合能/ (kJ·mol ⁻¹)	氢键 数	氢键相互作用残基
汉黄芩素	HSP90AA1	-33.5	1	Asp93
槲皮素	HSP90AA1	-34.7	6	Gly135、Tyr139、 Asn51、Ser52、Asp93、 Thr184
山柰酚	HSP90AA1	-33.5	3	Thr184、Ser52、Asn51
β-谷甾醇	HSP90AA1	-26.4	1	Asp93
黄芩素	HSP90AA1	-35.6	3	Asp93、Ser52、Asn51

表3 前5的化合物及潜在靶点分子对接

Table 3 Molecular docking of top five components and potential target

化合物	靶点	结合能/ (kJ·mol ⁻¹)	氢键 数	氢键相互作用残基
汉黄芩素	EGFR	-31.8	2	Met769(2)
槲皮素	EGFR	-34.3	5	Thr830、Asp831、Thr766、 Gln767、Met769
山柰酚	EGFR	-33.1	4	Lys721、Asp831、 Met769(2)
β-谷甾醇	EGFR	-35.6	1	Thr830
黄芩素	EGFR	-34.3	4	Thr830、Thr766(2)、Gln767

气,诸药相合,寒去热清,升降复常。早期一项关于半夏泻心汤的拆方研究将其分为辛开药组、苦降药组、甘补药组、辛开苦降药组、苦降甘补药组、辛开甘补药组和全方组等,结果提示半夏泻心汤及其拆方对CAG大鼠可以发挥抗炎、抗黏膜损伤、促进黏膜再生修复的作用,而其综合疗效又以全方组最优^[10],体现出半夏泻心汤整体组方的科学性。网络药理学多成分、多靶点、多通路的研究思路与之不谋而合,有助于系统全面阐释其治疗机制。

本研究借助TCMSP平台,通过设置OB和DL值筛选得到半夏泻心汤活性成分189种,并将其对应的靶标与CAG疾病靶标进行对比,获得交集基因80个,剔除不含交集基因(靶标)的化学成分后,最终筛得潜在化合物148种,其中部分化合物的有效性及作用机制已被证实。黄连、大枣、甘草中所富含的槲皮素是一种强大的自由基清除剂,能使胃上皮GES-1细胞免受H₂O₂诱导的氧化损伤从而发挥胃保护作用^[11];此外,还有多项研究表明槲皮素还

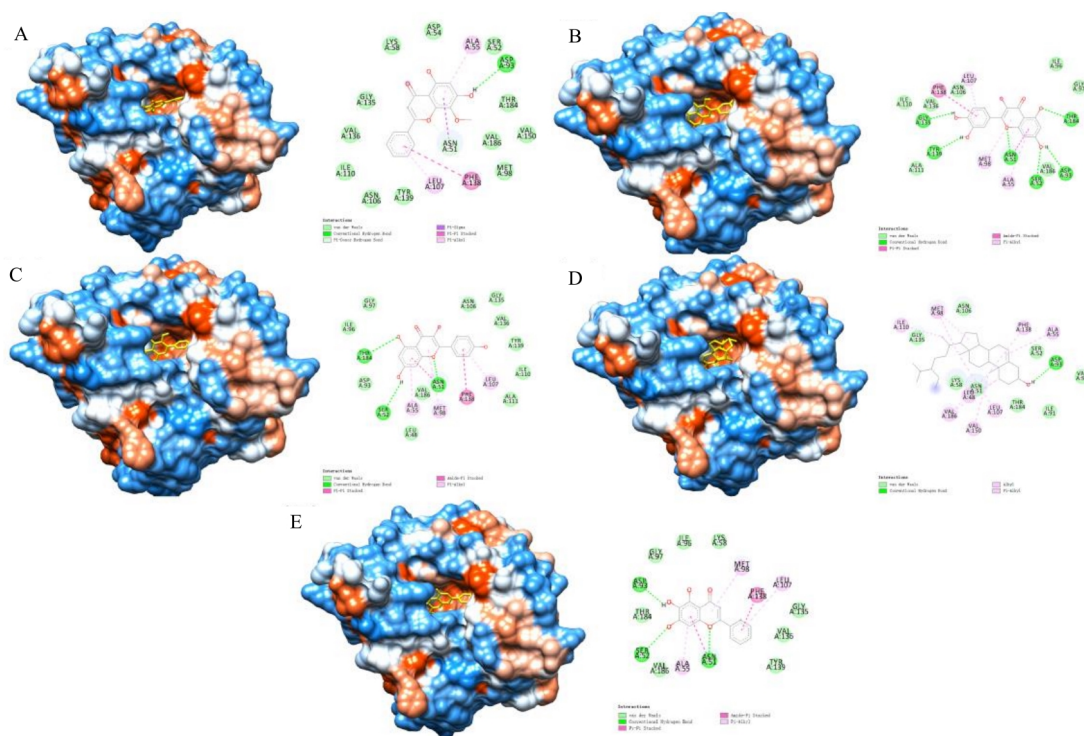


图10 HSP90AA1与汉黄芩素(A)、槲皮素(B)、山柰酚(C)、 β -谷甾醇(D)黄芩素(E)的分子对接
Fig. 10 Docking of HSP90AA1 and wogonin(A), quercetin(B), kaempferol(C), β -sitosterol(D), and baicalein(E)

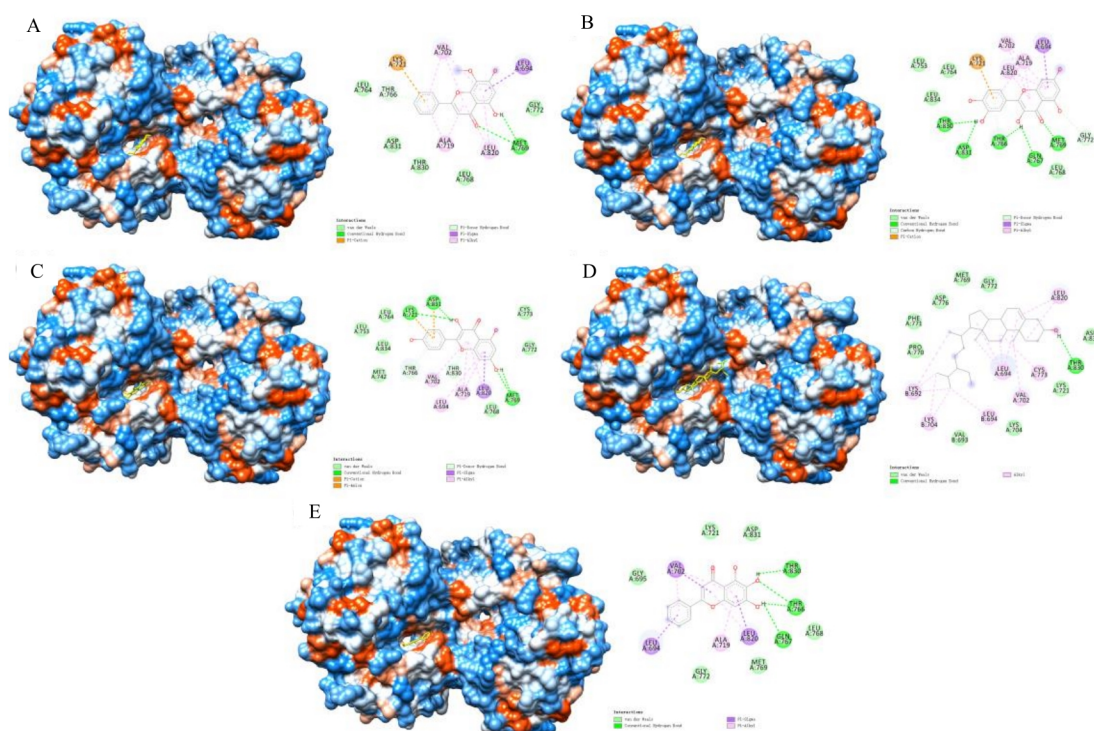


图11 EGFR与汉黄芩素(A)、槲皮素(B)、山柰酚(C)、 β -谷甾醇(D)黄芩素(E)的分子对接
Fig. 11 Docking of EGFR and wogonin(A), quercetin(B), kaempferol(C), β -sitosterol(D), and baicalein(E)

能够通过多种途径有效抑制胃癌 SGC-7901 细胞^[12-13]、MGC-803 细胞^[14]、BGC-823 细胞^[15]和 BGC-803 细胞^[16]的增殖和诱导其凋亡,表现出抗肿瘤作用。半夏、黄芩、干姜、人参、大枣中所含的 β -谷甾

醇具有抗炎、抗氧化、调节免疫等作用^[17],一项关于 β -谷甾醇干预阿司匹林所致胃黏膜损伤的动物实验表明, β -谷甾醇可以通过增强超氧化物歧化酶(SOD)的活性、提升血清一氧化氮(NO)含量、抑

制肿瘤坏死因子- α (TNF- α)炎症因子的释放与聚集等途径发挥胃粘膜保护作用^[18]。黄芩的主要活性成分如汉黄芩素、黄芩素、黄芩苷等,均为黄酮类化合物,具有抗炎作用和抗肿瘤作用。目前针对黄芩抗炎机制的网络药理学研究表明其抗炎作用的发挥依赖于减少促炎细胞因子的产生以及减少其与特异性受体结合、抑制启动炎症反应的关键蛋白的表达^[19]。汉黄芩素对胃癌细胞的增殖有抑制作用,同时可诱导其凋亡并抑制其迁移和侵袭能力,已有研究表明其作用机制可能与抑制 Wnt/ β -catenin 通路激活有关,从而抑制胃癌 SGC-7901 细胞的增殖和诱导其凋亡^[20]、上调 NK 细胞 GrB 等的表达,增强 NK 细胞对胃癌 MKN45 细胞的影响等有关^[21],与本研究所得胃癌通路结果一致。黄芩苷和黄芩素能够通过干扰花生四烯酸的代谢通路、抑制细胞因子的活性产生抗炎效用^[22-23]。黄连的主要有效成分之一为小檗碱,吴静等通过体外实验表明小檗碱具有抗幽门螺旋杆菌活性,其最小抗菌浓度为 0.025 g/mL^[24]。人参中含有的人参皂苷可以通过激活 Hedgehog 通路抑制 CAG 大鼠胃黏膜萎缩和炎症的发生^[25]。另有研究证实,黄酮类化合物如山柰酚,可以有效抑制幽门螺旋杆菌感染的 AGS 细胞中白细胞介素-8 的释放来延缓炎症过程,表现出抗氧化和抗炎活性,防止胃黏膜损伤^[26]。上述化合物多数在图 2 中具有较高的度值,位于网络图的核心。

由 PPI 蛋白互作用网络图可知涉及的重要靶标有 STAT3、TNF、AKT1、HSP90AA1 等,其中 STAT3 与细胞的增殖、分化及凋亡等密切相关,该靶标的异常活化可导致细胞异常增殖与恶性转化^[27];TNF 与细胞膜上的受体结合后,可以激活 TNF 信号通路,从而调控细胞生长、分化、凋亡和诱发炎症的发生^[28],研究证实,半夏泻心汤通过下调 NF- κ B 的表达,来抑制 TNF- α 等炎症细胞的转录、释放,促进胃黏膜组织修复^[29];HSP90AA1 可以调节细胞的增殖和凋亡,HSP90AA1 的过表达与肿瘤细胞的侵袭转移、新陈代谢紧密相关,导致疾病预后不良^[30]。结合“疾病-中药-化合物-交集靶标(基因)”网络图分析结果可知,半夏泻心汤尚作用于 IL-6、VEGFA、PTGS2、PTGS1、NOS2 等靶标,有研究表明 IL-6 与 CAG 炎症程度、胃黏膜萎缩程度、肠上皮化生程度以及上皮内瘤变程度呈正相关^[31];VEGFA 可以通过刺激血管内皮细胞增殖参加肿瘤血管的生成,并且其表达在 CAG 和胃癌的组织存在差异^[32];PTGS1、PTGS2 又分别名 COX-1、COX-2,是花生四

烯酸转化为前列腺素代谢中的关键酶。COX-2 在正常组织细胞中缺如,属于诱导性酶,炎症细胞因子、肿瘤启动子等因素可诱导 COX-2 的高度表达,启动一系列炎症反应^[33]。Cheng 等^[34]发现在胃癌细胞中,COX-2 得到了高度表达;邱伟等^[35]等发现 NOS2 在萎缩性胃炎、胃癌中表达明显高于慢性胃炎,且 NOS2 在胃癌中的表达高于萎缩性胃炎,表明在萎缩性胃炎往胃癌的发展中,NOS2 可能起着重要的作用。

由 GO 富集结果及 KEGG 代谢通路的结果分析可知,GO-MF 集中于蛋白结合、酶结合、信号受体结合等,GO-BP 则与对刺激物的反应、多细胞生物过程等有关,此外,氮化合物的代谢、含氧化合物反应、细胞凋亡、免疫反应等亦为的重要生物过程,共同参与胃黏膜修复,预防胃炎进展^[36-38]。半夏泻心汤还通过各种通路途径干预 CAG 的进展,有 PI3K-Akt、IL-17、MAPK、TNF 信号通路,以及胃癌通路、幽门螺旋杆菌感染的上皮细胞通路。CAG 属于癌前病变,抑制细胞的恶性增殖与分化具有重要的临床意义。PI3K-Akt 信号通路参与细胞的生长、存活、增殖、凋亡、血管生成、自噬等过程,对多种癌症存在着重要的调控作用^[39]。Li 等^[40]实验发现使用特异性 MAPK 抑制剂 U0126 和 JNK 抑制剂 SP600125,可以使得 p-ERK1/2、ERK1/2、p-JNK 和 JNK 等相关蛋白的表达下调从而抑制胃癌细胞增殖。在胃癌通路图中半夏泻心汤尚可对 Wnt/ β -catenin 信号通路、EGF 等进行调节。幽门螺旋杆菌感染是 CAG 的主要因素^[41],IL-17 是一种与适应性及固有性免疫应答相关的细胞因子,可以促进炎症的发生,Caruso 等^[42]研究显示幽门螺旋杆菌阳性患者胃黏膜中的 IL-17 蛋白、mRNA 表达水平均上升,并在行幽门螺旋杆菌根除治疗后胃黏膜 IL-17 表达水平下降。幽门螺旋杆菌感染的上皮细胞通路图提示半夏泻心汤可对其进行多方面的调节,该通路中所涉及的 EGFR 为表皮细胞生长因子(EGF)受体,由图 2“疾病-中药-化合物-交集靶标(基因)”网络图、图 3 PPI 网络互作图可知 EGFR 为潜在的重要靶点,半夏泻心汤可以通过上调 EGFR 的表达促进信号传导,从而实现促进胃上皮细胞增殖,保护胃黏膜免受炎症因子的破坏^[43-44]。

本研究通过网络药理学分析、分子对接验证及结合文献学习后发现槲皮素、黄芩素、汉黄芩素、小檗碱等为半夏泻心汤的主要活性成分,STAT3、TNF、AKT1、HSP90AA1、TP53 等为主要作用靶标,

涉及氮化合物的代谢、氧化反应、细胞凋亡等生物过程,调控PI3K-Akt、IL-17、胃癌、幽门螺旋杆菌感染的上皮细胞通路,分子对接验证了前5的化合物汉黄芩素、槲皮素、山柰酚、黄芩素与核心靶点HSP90AA1与潜在靶点EGFR结合均较好。本研究对阐明半夏泻心汤治疗CAG的作用机制具有一定借鉴意义,但所得结论仍需进一步实验或临床验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中华医学会病理分会消化病理学组筹备组. 慢性胃炎及上皮性肿瘤胃黏膜活检病理诊断共识 [J]. 中华病理学杂志, 2017, 46(5): 289.
The Group of Digestive Diseases of Chinese Society of Pathology. Consensus for diagnostic pathology in biopsies of chronic gastritis and epithelial neoplasms [J]. Chin J Pathol, 2017, 46(5): 289-293.
- [2] Correa P, Piazuelo M B. The gastric precancerous cascade [J]. J Dig Dis, 2012, 13(1): 2-9.
- [3] de Vries A C, van Grieken N C, Looman C W, et al. Gastric cancer risk in patients with premalignant gastric lesions: a nationwide cohort study in the Netherlands [J]. Gastroenterology, 2008, 134(4): 945-952.
- [4] 刘霞, 杨明, 张艳桥. 肠型胃癌的研究进展 [J]. 中国肿瘤, 2015, 24(10): 855-859.
Liu X, Yang M, Zhang Y Q. Research progress in intestinal-type gastric cancer [J]. Chin Can, 2015, 24(10): 855-859.
- [5] 廖伟琳, 陈国忠, 夏李明. 半夏泻心汤治疗慢性萎缩性胃炎的meta分析 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(6): 1526-1529.
Liao W L, Chen G Z, Xia L M. A meta-analysis of Banxia Xiexin Decoction in treatment of chronic atrophic gastritis [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2014, 25(6): 1526-1529.
- [6] 杨晋翔, 安静, 彭继升, 等. 半夏泻心汤加减方治疗慢性萎缩性胃炎临床疗效的系统评价 [J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(1): 46-52.
Yang J X, An J, Peng J S, et al. Meta-analysis of clinical effect of Banxia Xiexin decoction on patients with chronic atrophic gastritis [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2015, 38(1): 46-52.
- [7] Rossler I, Embacher J, Pillet B, et al. Tsr4 and Nap1, two novel members of the ribosomal protein chaperome [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(13): 6984-7002.
- [8] 章靓, 严国鸿, 江川, 等. 反向分子对接方法预测丹参酮II_B抗血小板潜在作用靶标 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(2): 221-224.
- Zhang J, Yan G H, Jiang C, et al. Study of prediction antiplatelet potential targets of tanshinone II_B by reverse molecule docking [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2017, 34(2): 221-224.
- [9] 庄莉, 翟园园, 姚卫峰, 等. 基于网络药理学的二至丸对肾脏保护作用的机制研究 [J]. 药学报, 2019, 54(5): 877-885.
Zhuang L, Zhai Y Y, Yao W F, et al. The mechanism study of protecting kidney of Erzhi Pill based on network pharmacology [J]. Acta Pharm Sin, 2019, 54(5): 877-885.
- [10] 李宇航, 王庆国, 牛欣, 等. 半夏泻心汤配伍意义的拆方研究——调节胃分泌作用的实验观察 [J]. 北京中医药大学学报, 1999(5): 49-52.
Li Y H, Wang Q G, Niu X, et al. Decomposition Research On Banxiaxiexin Decoction [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 1999(5): 49-52.
- [11] Hu X T, Ding C, Zhou N, et al. Quercetin protects gastric epithelial cell from oxidative damage in vitro and in vivo [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 754: 115-124.
- [12] 许振, 彭琼, 甘惠中, 等. 槲皮素对胃癌细胞SGC-7901上皮间质转化的抑制作用 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(3): 227-230.
Xu Z, Peng Q, Gan H Z, et al. Inhibitory effect of quercetin on epithelial-mesenchymal transition of human gastric cancer cell line SGC-7901 [J]. J Chi Pract Diagn Ther, 2017, 31(3): 227-230.
- [13] 耿威, 仇慧颖, 李林, 等. 槲皮素对胃癌细胞增殖及侵袭的调控作用及机制 [J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(1): 34-36.
Geng W, Yu H Y, Li L, et al. Effect and mechanism of quercetin on proliferation and invasion of gastric cancer cells [J]. Chin J Gerontol, 2018, 38(1): 34-36.
- [14] 秦燕, 何丽娅, 陈勇, 等. 槲皮素对人胃癌MGC-803细胞中瘦素、瘦素受体表达及JAK-STAT通路的影响 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2012, 28(1): 12-16.
Qin Y, He Y L, Chen Y, et al. Quercetin affects leptin and its receptor in human gastric cancer MGC-803 cells and JAK-STAT pathway [J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2012, 28(1): 12-16.
- [15] 黄晔, 廖阳, 沈杨炳, 等. 槲皮素通过抑制c-Jun的表达水平增强5-氟尿嘧啶对胃癌细胞凋亡的诱导活性 [J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(2): 206-211.
Hang Y, Liao Y, Shen Y B, et al. Quercetin enhances 5-fluorouracil-induced apoptosis in gastric cancer by down-regulating c-Jun expression [J]. Chin J Pathophysiol, 2018, 34(2): 206-211.
- [16] 贾雪峰, 陈文明, 孙道萍, 等. 槲皮素抑制胃癌上皮-间质转化的研究 [J]. 海南医学院学报, 2015, 21(8): 1030-

- 1032.
- Jia X F, Chen W M, Sun D P, et al. Quercetin in inhibiting the epithelial-mesenchymal transition of gastric cancer [J]. J Hainan Med Coll, 2015, 21(8): 1030-1032.
- [17] Cayla G, Collet J P, Silvain J, et al. Prevalence and clinical impact of Upper Gastrointestinal Symptoms in subjects treated with low dose aspirin: the UGLA survey [J]. Int J Cardiol, 2012, 156(1): 69-75.
- [18] 肖志彬, 刘小雷, 成日青, 等. β -谷甾醇对阿司匹林致胃黏膜损伤副作用及其药理作用的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(1): 148-152.
- Xiao Z B, Liu X L, Cheng R Q, et al. Influence of β -sitosterol on gastric mucosal side effect induced by aspirin and its pharmacological functions [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2016, 22(1): 148-152.
- [19] 雷奇林, 黄雅兰, 钟茜, 等. 基于网络药理学的黄芩抗炎作用机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 3523-3530.
- Lei Q L, Hang Y L, Zhong Q, et al. Anti-inflammatory mechanism of *Scutellariae Radix* based on network pharmacology [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2018, 49(15): 3523-3530.
- [20] 汪晓辉, 卫莹芳, 程红. 汉黄芩素对胃癌细胞SGC7901凋亡、侵袭迁移及Wnt/ β -catenin信号通路的影响研究 [J]. 中药材, 2016, 39(6): 1372-1376.
- Wang X H, Wei Y F, Cheng H. Effects of wogonin on apoptosis, invasion, migration and Wnt/ β -catenin signaling pathway of gastric cancer cells SGC7901 [J]. J Chin Med Mater, 2016, 39(6): 1372-1376.
- [21] 许琳, 王莹, 陈复兴, 等. 汉黄芩素对人NK细胞杀伤胃癌MKN45细胞的影响及其机制研究 [J]. 免疫学杂志, 2014, 30(9): 804-808.
- Xu L, Wang Y, Chen F X, et al. The effect of wogonin on NK cell cytotoxicity against gastric cancer MKN45 cells in vitro and the mechanism [J]. Immunol J, 2014, 30(9): 804-808.
- [22] 付璟, 石继和. 黄芩素体外抑菌与体内抗炎作用研究 [J]. 中国药房, 2014, 25(23): 2136-2138.
- Fu J, Shi J. Antibacterial activity *in vitro* and anti-inflammatory effects *in vivo* of baicalin [J]. Chin Pharm, 2014, 25(23): 2136-2138.
- [23] 李倩楠, 葛晓群. 黄芩苷的解热作用及对细胞因子的影响 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(8): 1068-1072.
- Li Q N, Ge X Q. Effect of baicalin on antipyresis and influence on cytokin [J]. China J Chin Mater Med, 2010, 35(8): 1068-1072.
- [24] 吴静, 王克霞, 李朝品, 等. 黄连与盐酸小檗碱对幽门螺杆菌的体外抗菌活性 [J]. 中药药理与临床, 2006, 22(2): 37-38.
- Wu J, Wang K X, Li C P. *In vitro* antibacterial activity of *Coptis chinensis* and berberine hydrochloride against *Helicobacter pylori* was studied [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2006, 22(2): 37-38.
- [25] 赵唯含, 史瑞, 杨美娟, 等. 黄芪甲苷、人参皂苷Rg₁对慢性萎缩性胃炎大鼠Hedgehog信号通路的调控影响 [J]. 环球中医药, 2017, 10(12): 1428-1433.
- Zhao W H, Shi R, Yang M J, et al. Regulation effect of astragaloside IV and ginsenoside Rg₁ on the hedgehog signal pathway in rats [J]. Glob Tradit Chin Med, 2017, 10(12): 1428-1433.
- [26] Mariusz A S, Kornelia S, Bogdan M, et al. The inhibitory effect of flavonoids on interleukin-8 release by human gastric adenocarcinoma (AGS) cells infected with cag PAI (+) *Helicobacter pylori* [J]. Cent Eur J Immunol, 2016, 41(3): 229-235.
- [27] 蔺焕萍, 王巧侠, 王小平, 等. 基于VEGF, STAT3和HIF-1 α 信号转导分子探讨参佛胃康逆转小鼠慢性萎缩性胃炎癌前病变作用机制 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(10): 2320-2322.
- Lin H P, Wang Q X, Wang X P, et al. Based on VEGF, STAT3 and HIF-1 α signal transduction molecules, the mechanism of Shenfoweikang in reversing precancerous lesions of chronic atrophic gastritis in mice was investigated [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2017, 28(10): 2320-2322.
- [28] 罗予, 张燕, 杜楠楠. 加味四君子汤对阿司匹林致大鼠胃黏膜损伤的修复作用 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2011, 46(1): 77-79.
- Luo Y, Zhang Y, Du N N. Protective effects of additional sijunzi decoction on damage of gastric mucosa induced by aspirin in rats [J]. J Zhengzhou Univ: Med Sci, 2011, 46(1): 77-79.
- [29] 陈永灿, 杨汐茵, 陈宇, 等. 半夏泻心汤对慢性萎缩性胃炎大鼠炎症因子的影响 [J]. 浙江中医杂志, 2019, 54(12): 876-877.
- Chen Y C, Yang X Y, Chen Y, et al. Effect of Banxia Xiexin Decoction on inflammatory factors in rats with chronic atrophic gastritis [J]. Zhejiang J Tradit Chin Med, 2019, 54(12): 876-877.
- [30] Wang J H, Cui S Z, Zhang X L, et al. High expression of heat shock protein 90 is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in patients with advanced gastric cancer [J]. PloS One, 2013, 8(4): e62876.
- [31] 黄懋敏, 董丹丹, 亓丹丹, 等. 慢性萎缩性胃炎患者Hp感染与TGF- β RII、IL-6和TNF- α 的表达研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(5): 751-756.
- Huang M M, Dong D D, Qi D D, et al. Hp infection and expression of TGF- β R II, IL-6 and TNF- α in patients with chronic atrophic gastritis [J]. Chin J Immunol,

- 2018, 34(5): 751-756.
- [32] 武春燕, 胡怀远, 马国栋, 等. COX-2、VEGF、cyclin D1在胃癌及慢性萎缩性胃炎的表达及其意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2006, 31(6): 622-623.
- Wu C Y, Hu H Y, Ma G D, et al. Expression and its of COX-2, VEGF and cyclin D1 in gastric carcinoma and chronice atrophic gastritis and its significance [J]. Acta Acad Med Bengbu, 2006, 31(6): 622-623.
- [33] 李英荃. 幽门螺杆菌、环氧化酶-2及微量元素与胃黏膜疾病的相关性研究[J]. 海南医学院学报, 2014, 20(7): 908-912.
- Li Y Q. Relationships of gastric cancer with serum trace elements, *Helicobacter pylori* and COX-2 in gastric mucosal lesions [J]. J Hainan Med Coll, 2014, 20(7): 908-912.
- [34] Cheng J, Fan X. Role of cyclooxygenase-2 in gastric cancer development and progression [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(42): 7361-7368.
- [35] 邱伟, 方晓华, 杨振斌, 等. 胃萎I号方对CDX2、NOS2、TFF3在脾虚型CAG中表达的影响及疗效观察[J]. 内蒙古中医药, 2016, 35(6): 9-10.
- Qiu W, Fang X H, Yang Z B, et al. Effect of Weiwei No.1 Recipe on expression of CDX2, NOS2 and TFF3 in CAG of spleen deficiency type and its curative effect observation [J]. Nei Mongol J Tradit Chin Med, 2016, 35(6): 9-10.
- [36] 郭昱, 郭霞, 姚希贤. Hp对慢性萎缩性胃炎内皮素及一氧化氮水平影响的实验与临床研究[J]. 世界华人消化杂志, 2003, 11(5): 562-564.
- Guo Y, Guo X. Changes of nitricoxide and endothelin in *Helicobacter pylori* associated chronic atrophic gastritis before and after eradication: an experimental and clinical study [J]. World Chin J Digestol, 2003, 11(5): 562-564.
- [37] 刘月涛, 胡英还, 秦雪梅. 黄芪建中汤治疗大鼠慢性萎缩性胃炎的代谢组学研究[J]. 中草药, 2018, 49(10): 2312-2319.
- Liu Y T, Hu Y H, Qin X M. Metabonomics study on interventions of Huangqi Jianzhong Decoction against chronic atrophic gastritis in rats [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2018, 49(10): 2312-2319.
- [38] 张艳, 曹瑞岗, 张锐, 等. 中医药保护胃黏膜的作用及机制研究现状[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2018, 20(5): 804-809.
- Zhang Y, Cao R G, Zhang R, et al. Research status of the role and mechanism of traditional chinese medicine in protecting gastric mucosa [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med, 2018, 20(5): 804-809.
- [39] 胡倩, 易屏. 胃癌分子信号通路及其干预的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(7): 576-583.
- Qian H, Ping Y. Gastric cancer associated signaling pathways and interventions [J]. World Chin J Digestol, 2017, 25(7): 576-583.
- [40] Li P, Xue W J, Feng Y, et al. Long non-coding RNA CASC2 suppresses the proliferation of gastric cancer cells by regulating the MAPK signaling pathway [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(8): 3522-3529.
- [41] 赵智宏, 董娟. 黄芪建中汤辅助治疗脾胃虚寒型Hp阳性慢性萎缩性胃炎患者36例临床观察[J]. 四川中医, 2016, 8(8): 3522-3529.
- Zhao Z H, Dong J. Clinical observation of Huangqi Jianzhong Decoction on 36 cases of chronic atrophic gastritis with HP positive of spleen and stomach deficiency cold type [J]. Sichuan J Tradit Chin Med, 2017, 35(8): 158-160.
- [42] Caruso R, Fina D, Paoluzi O A, et al. IL-23-mediated regulation of IL-17 production in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa [J]. Eur J Immunol, 2008, 38(2): 470-478.
- [43] 赵春莲, 张艳, 韩亮, 等. 幽门螺杆菌与胃癌相关分子机制研究进展[J]. 中国现代医药杂志, 2018, 20(2): 90-94.
- Zhao C L, Zhang Y, Han L, et al. Research progress on molecular mechanism of *Helicobacter pylori* and gastric cancer [J]. China J Mod Med, 2018, 20(2): 90-94.
- [44] 朱永苹, 林寿宁, 韦维. 安胃汤对慢性萎缩性胃炎模型大鼠EGF、EGFR mRNA表达的影响[J]. 四川中医, 2012, 30(6): 45-48.
- Zhu Y P, Lin S N, Wei W. Effect of Anwei Decoction on Expression of EGF、EGFR mRNA in Rats with Chronic Atrophic Gastritis [J]. Sichuan J Tradit Chin Med, 2012, 30(6): 45-48.

[责任编辑 兰新新]