

## 基于生物信息学的铁死亡机制相关胆管癌潜在治疗靶点和小分子药物筛选

单娇娇<sup>1</sup>, 赵杰<sup>2</sup>, 刘珊<sup>1</sup>, 王新风<sup>1\*</sup>

1. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014

2. 山东第一医科大学第三附属医院, 山东 济南 250031

**摘要:** 目的 通过生物信息学方法研究与铁死亡相关的治疗胆管癌潜在作用机制, 高通量筛选通过铁死亡途径治疗胆管癌疾病的潜在小分子药物。方法 在GEO (Gene Expression Omnibus) 在线数据库中检索与胆管癌相关的数据集, 使用TCGA (The Cancer Genome Atlas) 数据库获得胆管癌相关样本及正常样本的数据, 将上述筛选得到的数据集矩阵进行规范化数据整理, 通过Sanger平台对数据集中的靶点基因进行limma差异分析, 通过FerrDb铁死亡相关分析数据库收集与铁死亡相关的靶点, 将收集得到的铁死亡相关靶点与差异分析得到的胆管癌相关疾病靶点取交集后, 得到共同靶点, 将上述共同靶点导入STRING数据库, 得到与铁死亡相关的胆管癌疾病靶点间的蛋白质相互作用 (PPI) 网络分析, 筛选核心靶点, 分别使用DAVID v6.8与Funrich富集分析软件对上述潜在作用靶点进行生物学功能与信号通路的富集分析, 并利用cMAP (Connectivity Map) 数据库高通量筛选通过铁死亡途径治疗胆管癌疾病的潜在小分子药物, 将小分子化合物与靶蛋白进行分子对接分析, 通过TIMER (Tumor Immune Estimation Resource) 数据库分析铁死亡与胆管癌疾病共同靶点各自间表达水平与免疫细胞浸润水平或免疫检查点表达水平的相关性。结果 筛选得到3 133个胆管癌相关靶点, 铁死亡相关靶点487个, 取交集处理共得到93个铁死亡与胆管癌疾病相关的共同靶点, 共同靶点的基因本体 (GO) 功能富集分析结果提示铁死亡途径对胆管癌治疗方面可能与转录调控相关过程、凋亡与细胞增殖等密切相关, 京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 信号通路富集分析结果表明铁死亡途径对胆管癌治疗方面可能与TRAJL分子信号通路、表皮生长因子受体 (EGFR/Erbb) 相关信号通路、鞘氨醇-1-磷酸受体-1 (S1P1) 分子信号通路、胰岛素相关信号通路等过程密切相关, 通过筛选得到3个小分子化合物 (海恩酮、氯可托龙戊酸酯、利扎曲普坦), 分子对接结果表明氯可托龙戊酸酯与其他2种成分相比, 对上述3个潜在核心共同作用靶点 (TP53、PTEN、SRC) 的结合普遍较其余小分子成分强, 从而提示其有望通过铁死亡途径治疗胆管癌相关疾病。结论 以铁死亡途径作为切入点, 通过生物信息学方法探寻治疗胆管癌分子作用机制及蛋白靶点, 从而筛选得到潜在的治疗药物, 具有重要意义。

**关键词:** 生物信息学; 铁死亡; 胆管癌; 分子机制; 药物靶点; 氯可托龙戊酸酯

中图分类号: R979.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 09-1863-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.09.005

## Identification of potential therapeutic targets and small molecule drugs for cholangiocarcinoma using bioinformatics methods based on ferroptosis mechanism

SHAN Jiaojiao<sup>1</sup>, ZHAO Jie<sup>2</sup>, LIU Shan<sup>1</sup>, WANG Xinfeng<sup>1</sup>

1. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

2. The Third Affiliated Hospital of Shandong First Medical University, Jinan 250031, China

**Abstract: Objective** To screen the potential therapeutic targets of cholangiocarcinoma associated with ferroptosis using bioinformatics methods, and to high-throughput screen the potential small molecule drugs for the treatment of cholangiocarcinoma diseases through ferroptosis mechanisms. **Methods** Data sets related to cholangiocarcinoma were retrieved from GEO (Gene

收稿日期: 2023-04-07

基金项目: 山东省药学会医院药学科专项项目 (yyyx2021ms-04)

第一作者: 单娇娇, 女, 主管药师, 研究方向为临床药学、药事管理。E-mail: sjjiao2013@126.com

\*通信作者: 王新风, 女, 副主任药师, 研究方向为中药学、临床药学。E-mail: 15168811210@139.com

Expression Omnibus) online database, and the data of cholangiocarcinoma related samples and normal samples were obtained from TCGA (The Cancer Genome Atlas) database. The data set matrix obtained from the above screening was standardized, and limma difference analysis was performed on target genes in the data set through Sanger platform, and targets related to ferroptosis were collected through FerrDb ferroptosis related online database, and after intersecting the collected ferroptosis related targets with cholangiocarcinoma targets obtained through differential analysis methods, a common target is obtained. The common targets are imported into the STRING database to obtain protein-protein interaction (PPI) network analysis between ferroptosis related cholangiocarcinoma targets. Core targets are screened, and biological functional and signaling pathway enrichment analysis is performed on the above potential targets using DAVID v6.8 and Funrich enrichment analysis software. Using the cMAP (Connectivity MAP) database to high-throughput screen potential small molecule drugs for the treatment of cholangiocarcinoma through the ferroptosis pathway, and molecular docking analysis was performed on small molecule compounds and target proteins. The TIMER (Tumor Immune Estimation Resource) database was used to analyze the correlation between the expression levels of common targets of ferroptosis and cholangiocarcinoma, immune cell infiltration levels, or immune checkpoint expression levels.

**Results** 3 133 targets related to cholangiocarcinoma and 487 targets related to ferroptosis were identified, and a total of 93 common targets related to ferroptosis and cholangiocarcinoma were obtained by intersection. The GO functional enrichment analysis of the common targets suggested that the ferroptosis pathway may be closely related to the treatment of cholangiocarcinoma. The KEGG signaling pathway enrichment analysis results showed that the ferroptosis pathway may be related to the TRAJL molecular signaling pathway in the treatment of cholangiocarcinoma. The EGF(ErbB) receptor related signaling pathway, S1P1 molecular signaling pathway, insulin related signaling pathway, and other processes are also closely related it. Meanwhile, some small molecule compounds were identified through screening, and a total of three components were identified. Molecular docking results showed that compared with the other two components, the binding of chlorotolone valerate to the three potential core targets mentioned above is generally stronger than the other small molecule components, this suggests that it has the potential to treat cholangiocarcinoma related diseases through the ferroptosis pathway.

**Conclusion** Using the ferroptosis pathway as a starting point, potential targets for cholangiocarcinoma can be identified through bioinformatics methods, and potential therapeutic drugs can be screened.

**Key words:** bioinformatics; ferroptosis; cholangiocarcinoma; molecular mechanism; drug target; chlorotolone valerate

铁死亡是近年来发现的一种具有氧化性和非凋亡性的细胞程序性死亡<sup>[1]</sup>。通过激活转铁蛋白使大量 $\text{Fe}^{3+}$ 以 $\text{Fe}^{2+}$ 的形式进入细胞, $\text{Fe}^{2+}$ 进一步在细胞内发生芬顿反应(Fenton),从而生成氧化自由基。氧化自由基可将细胞中的多不饱和脂肪酸转变为有毒的脂质过氧化物,从而增强细胞的氧化损伤,诱导细胞死亡,因此,脂质过氧化是铁死亡的重要标志<sup>[2-4]</sup>。由于肿瘤细胞内含有的较高水平的铁离子以及其剧烈的代谢活动导致的较高活性氧(ROS)水平,肿瘤细胞相较于正常细胞更容易发生铁死亡<sup>[5]</sup>。通过对铁死亡各通路中的调控位点进行调控,可以促进肿瘤细胞的死亡。近年来铁死亡已成为抗肿瘤研究领域的关注热点。

胆管癌属于一种常见的消化系统恶性肿瘤疾病,包括肝内胆管癌和肝外胆管癌。胆管癌的总体发病率在世界范围内呈上升趋势,已严重威胁人类健康。研究报道在胆管癌发生过程中铁代谢异常参与其中,可伴随着铁依赖性氧化应激增强<sup>[6]</sup>,胆管癌恶性进展过程中的氧化应激失衡与铁代谢异常均提示铁死亡参与其中。本研究从铁死亡途径出发,探究胆管癌发生发展中的潜在分子作用机制及

相关蛋白靶点,并利用生物信息学手段拟找到潜在的治疗药物,对胆管癌的防治具有重要的实际意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 胆管癌数据集收集筛选及相关疾病靶点差异分析

通过 GEO 在线数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds/>) 检索与胆管癌相关的数据集(GSE26566),以同时包含正常样本以及疾病样本为筛选标准;与此同时,使用 TCGA 数据库(<https://gdc.cancer.gov/access-data/gdc-data-transfer-tool>),分别获得胆管癌相关样本及正常样本的数据。将上述筛选得到的数据集矩阵进行规范化数据整理后,通过 Sanger 平台 (<https://www.sangerbox.com/Index>)对数据集中的靶点基因进行 limma 差异分析。设置  $P < 0.05$ ,表达差异倍数(FC)  $> 1.5$ ,分别得到靶点差异分析火山图与热图。

### 1.2 铁死亡相关靶点的收集

通过 FerrDb 铁死亡相关分析数据库 (<http://www.zhounan.org/ferrdb/>),FerrDb 平台是一个收集铁死亡调节因子、标记因子及铁死亡与疾病关联的数

数据库,其包含较全面的与铁死亡相关的数据)收集与铁死亡相关的靶点。其中重点包括铁死亡驱动因子、抑制因子、标记因子3种。

### 1.3 铁死亡与胆管癌共同靶点的蛋白质相互作用网络(PPI)体系构建及拓扑学系统性分析

将收集得到的铁死亡相关靶点与差异分析得到的胆管癌相关疾病靶点取交集后,得到二者之间的共同靶点。将共同靶点导入 STRING 11.5(<https://string-db.org/>)数据库,得到与铁死亡相关的胆管癌疾病靶点间的PPI。具体步骤为进入页面首先选择“multiple proteins”条目,输入上一步得到的相关靶点名称,并选择“Homo sapiens”进行检索。置信度分数选择为0.400,并下载PPI结果(.tsv格式文件),而后将其导入 Cytoscape 3.7.1 软件对该网络进行拓扑学性质分析,主要包括度中心性、中介中心性(betweenness centrality)、接近中心性(closeness centrality)。使用 MCODE 插件筛选提取存在于该网络体系中的核心子网络,从而获取得到相关潜在核心靶点。

### 1.4 铁死亡与胆管癌疾病共同靶点的基因本体(GO)注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

使用 DAVID Bioinformatics Resources 6.8 在线富集分析平台对上述获得的潜在共同靶点进行生物功能学富集分析,使用 OmicShare 云平台,将上述得到的富集分析结果 $P < 0.05$ 的条目进行可视化作图。使用 Funrich V3.0 富集分析软件对上述获得的潜在作用靶点进行信号通路富集分析。

### 1.5 cMAP 数据库高通量筛选通过铁死亡途径治疗胆管癌的潜在小分子药物(老药新用)

通过 cMAP 数据库(<https://clue.io/query>)筛选通过铁死亡途径治疗胆管癌的潜在小分子药物,将“1.3”项得到的铁死亡与胆管癌疾病的共同靶点,分别整理为“上调”和“下调”的文件输入数据。通过系统高通量分析,筛选出对其具有潜在疗效的小分子化合物。潜在小分子药物的获取来源为美国食品药品监督管理局(FDA)批准的小分子化合物,具体获取的依据标准是按照高通量筛选得到的评分,从“-1”由高到低排列,选取排名前3的成分作为后续研究的主要对象。

### 1.6 药物小分子成分与核心共同靶点分子对接验证

使用 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载核心共同靶点的3D结构(.pdb格式文件),再利用 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)收集分析得到的小分子药物结构(.sdf格式文件)。

运用 CB-Dock2 软件(<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/blinddock.php>)分别将小分子化合物及靶蛋白上传系统后进行分子对接。结合能 $< 0$ 说明配体分子与受体蛋白可以自发结合。具体参数设置原则为以原先结合在该蛋白靶点口袋上的化合物所对应的坐标为中心,从而进行晶格建系。

### 1.7 TIMER 数据库分析

TIMER 数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)可用于分析铁死亡与胆管癌疾病共同靶点各自间表达水平与免疫细胞浸润水平或免疫检查点表达水平的相关性。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胆管癌相关疾病靶点与铁死亡相关靶点的筛选与收集

通过 GEO 数据库检索与胆管癌相关的数据集,通过筛选确定了 GSE26566 这个数据集。GSE26566 数据集共包含样本量 169 例,标题为“Molecular classification of human cholangiocarcinoma”。其中,该数据集包含胆管癌相关疾病样本 104 例,正常对照样本 6 例,其发表于 2011 年 1 月 11 日,最后更新于 2013 年 11 月 15 日。此外,还通过 TCGA 数据库,分别获取了 35 例胆管癌样本数据和 9 例正常对照样本数据。将上述筛选出的数据集下载导出并进行数据的规范处理后进行了 limma 差异分析(图 1A~B),将二者取交集处理后得到共同差异表达靶点 3 133 个,其中 GSE26566 数据集包含 3 984 差异基因以及 TCGA 数据集包含 12 286 个差异基因,具体结果见图 2-A。通过 FerrDb 铁死亡分析数据库共收集得到铁死亡相关靶点 487 个,再将其与上述 3 133 个胆管癌相关靶点进行取交集处理,共得到 93 个铁死亡与胆管癌疾病相关的共同靶点(图 2-B),提示这些靶点可能同时参与铁死亡过程及胆管癌疾病的发生进展。

### 2.2 铁死亡与胆管癌相关共同靶点的 PPI 体系及拓扑学分析

将上述得到的 93 个靶点导入 STRING 11.5 数据库,得到构建好的 PPI 网络(.csv 格式文件),再将其导入 Cytoscape 软件对该网络进行拓扑学性质的深度分析。铁死亡与胆管癌疾病相关的差异表达共同靶点 PPI 网络包含 86 个靶标蛋白以及 240 条蛋白相互作用关系(图 3-A)。利用 Cytoscape 软件中的 MCODE 插件抽取内嵌该网络体系中的核心子网

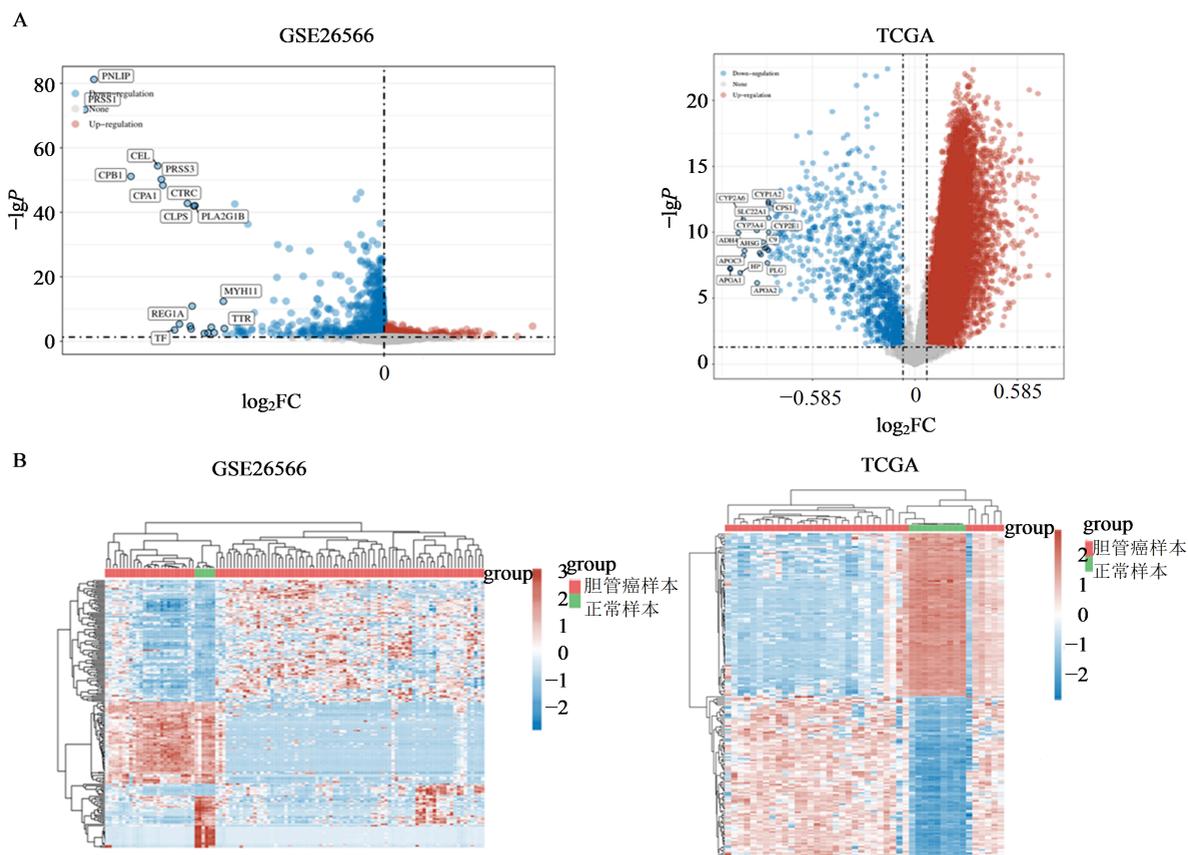


图1 基于GEO及TCGA数据库的胆管癌相关疾病靶点差异表达分析(A-火山图,B-热图)

Fig. 1 Differential expression analysis of targets related to cholangiocarcinoma using GEO and TCGA databases (A-volcano map results, B-heatmap)

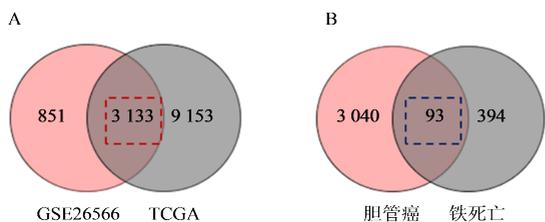


图2 胆管癌相关疾病靶点(A)与铁死亡和胆管癌疾病相关的共同靶点(B)韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of targets related to cholangiocarcinoma (A) and common targets related to ferroptosis and cholangiocarcinoma (B)

络(具体参数设置: Degree Cutoff: 5, K-core: 5), 从而获得1个包含有11个核心靶点的核心子网络(MCODE score: 7.8), 具体见图3-B。利用Cytoscape软件中的NetworkAnalyzer插件对总的PPI网络进行拓扑学性质分析, 其中涉及子网络相关靶点对应的拓扑学参数见表1。在网络节点拓扑学性质中, 接近中心性是指每个节点到其他节点最短路径的平均长度。度值(degree)表示某节点的“邻居”节点有多少。而一个节点的中介中心性

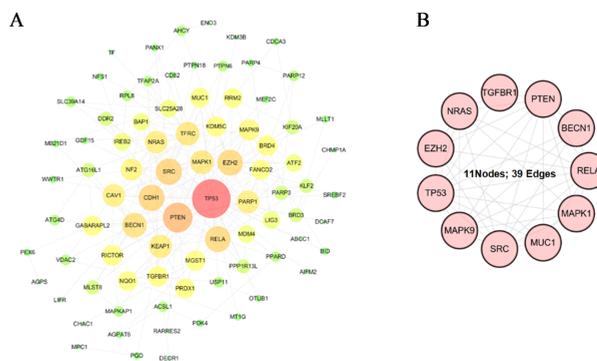


图3 铁死亡与胆管癌疾病相关的差异表达共同靶点PPI网络(A)及核心靶点子网络(B)

Fig. 3 Construction of common target PPI network (A) and core target (B) mining analysis of ferroptosis and cholangiocarcinoma disease

是指通过复杂的计算去表征节点在网络中的作用, 表示所有的节点对之间的通过该节点的最短路径条数, 从而很好地描述了1个网络中节点可能需要承载的流量。

### 2.3 核心靶点与免疫细胞间的相关性分析

通过TIMER数据库分析发现, 11个核心

表1 铁死亡与胆管癌差异表达的共同潜在核心靶点的拓扑学参数分析

基因名称	度中心性	中介中心性	接近中心性
TP53	44	0.476 826 70	0.638 461 54
PTEN	26	0.101 175 13	0.515 527 95
SRC	19	0.072 970 63	0.494 047 62
RELA	18	0.068 124 23	0.497 005 99
EZH2	18	0.095 216 31	0.477 011 49
BECN1	16	0.070 321 74	0.474 285 71
MAPK1	14	0.024 606 60	0.448 648 65
NRAS	12	0.010 747 36	0.463 687 15
MAPK9	9	0.003 594 39	0.434 554 97
TGFBR1	7	0.001 877 43	0.419 191 92
MUC1	6	0	0.432 291 67

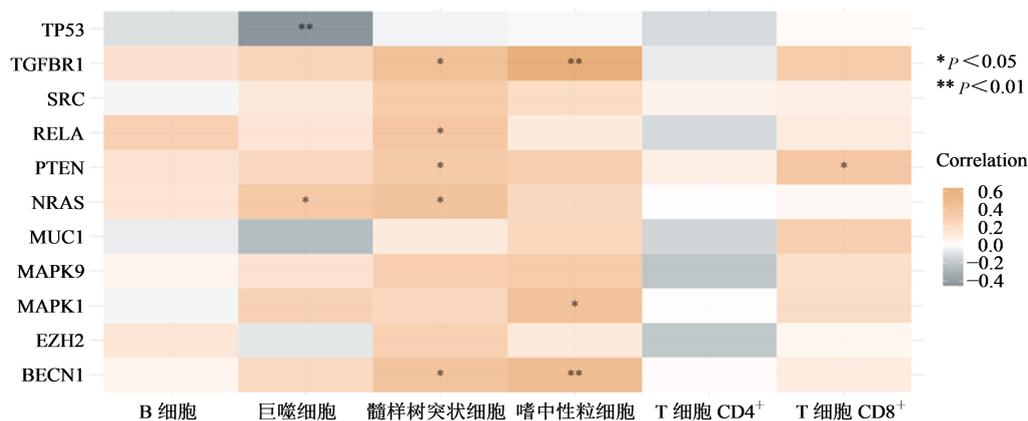


图4 铁死亡与胆管癌核心靶点与免疫细胞间的相关性分析(TIMER数据库)

Fig. 4 Correlation analysis between core targets related to ferroptosis and differentially expressed in cholangiocarcinoma and immune cells (TIMER database)

定位胞质、胞核、核浆等亚细胞组成密切相关。具体结果见图5-B。涉及的分子功能(MF)结果提示:铁死亡途径对胆管癌治疗方面可能与蛋白结合、DNA结合、ATP结合、蛋白激酶结合等分子功能结合方式密切相关。具体结果见图5-C。

KEGG信号通路富集结果提示:铁死亡途径对胆管癌治疗方面可能与TRAJL分子信号通路、表皮生长因子受体(EGFR/ErbB)相关信号通路、鞘氨醇-1-磷酸受体-1(S1P1)分子信号通路、胰岛素相关信号通路等过程密切相关。可视化结果见图6。

## 2.5 cMAP数据库高通量筛选通过铁死亡途径治疗胆管癌相关的小分子药物成分

通过将上述分析得到的铁死亡与胆管癌疾病相关的潜在核心共同作用靶点分别按照“上调”基

靶点表达与髓样树突状细胞、嗜中性粒细胞及CD8<sup>+</sup>T细胞间存在不同程度的正相关性,与CD4<sup>+</sup>T细胞间存在不同程度的负相关性(图4)。因此这些结果表明,肿瘤免疫逃逸可能参与了上述核心靶点介导的胆管癌致癌过程。

## 2.4 铁死亡与胆管癌疾病共同靶点的GO生物学与KEGG信号通路富集分析

将上述得到的93个铁死亡与胆管癌疾病相关的共同靶点分别进行GO与KEGG富集分析,按照重要显著程度进行的排名,涉及的主要生物过程(BP)结果提示:铁死亡途径对胆管癌治疗方面可能与转录调控相关过程、凋亡与细胞增殖、细胞对药物反应等功能密切相关。可视化结果见图5-A。涉及的细胞组分(CC)结果提示:铁死亡途径对胆管癌治疗方面可能与

因与“下调”基因格式文件分别导入cMAP数据库平台,从而筛选得到对其具有潜在治疗作用的小分子化合物药物(从得分负数的候选成分开始筛选)。从排名前30的成分中,通过筛选确定具有明确化学结构式的小分子化合物,共找出3个成分,结构见图7,信息见表2。

## 2.6 3种小分子药物与对应3个潜在核心靶点分子对接验证

在已获得的铁死亡与胆管癌差异表达的共同潜在核心靶点中,TP53、PTEN与SRC靶点的核心程度相对最高(按照相关拓扑学参数由高至低排名),且又同时出现在经MCODE分析后得到的核心靶点网络中,因此将其作为重点靶标进行分子对接研究。分子对接结果显示得到的小分子药物与其对

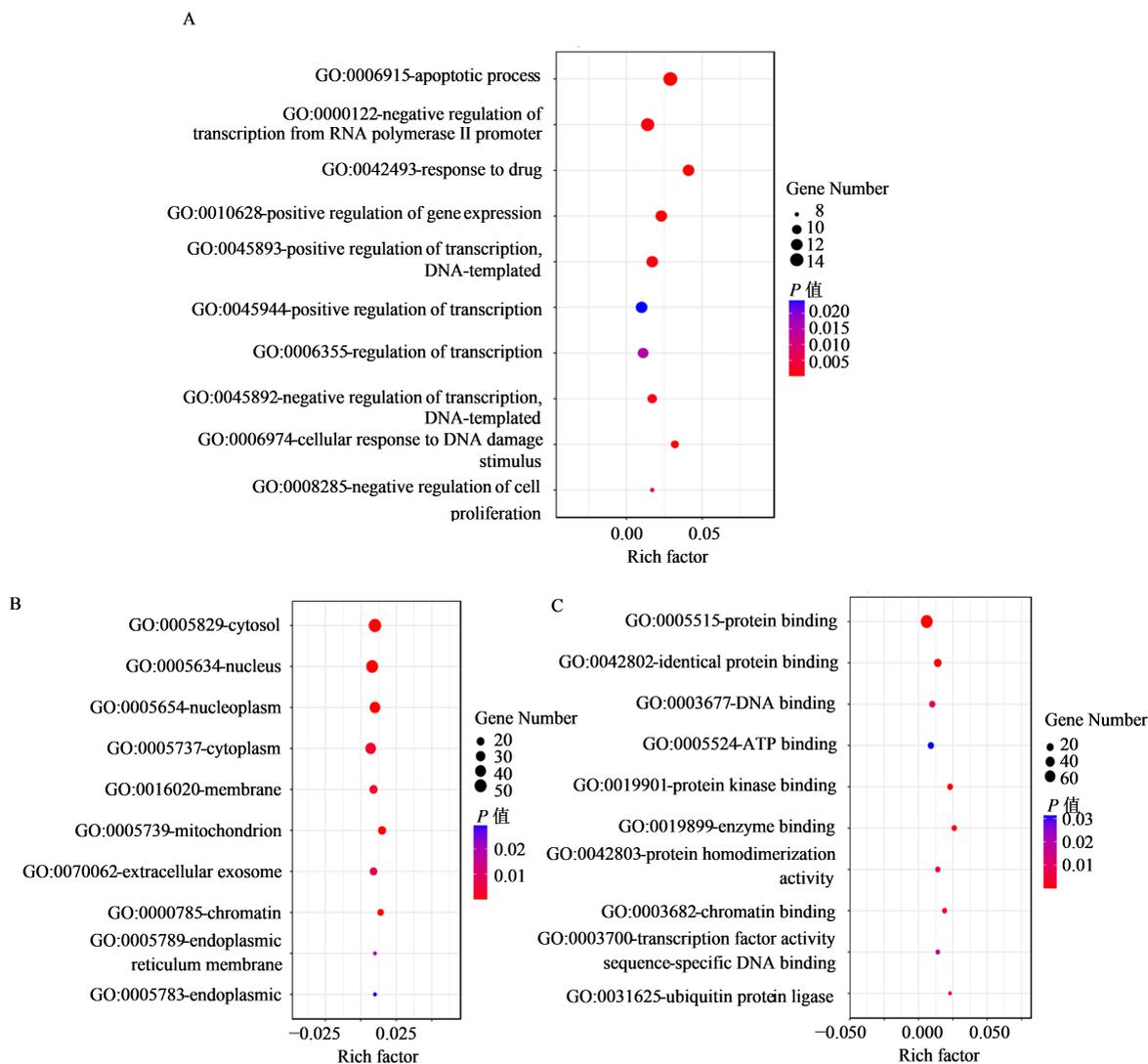


图 5 铁死亡与胆管癌疾病相关的共同靶点 GO 富集分析 (A-BP, B-CC, C-MF)

Fig. 5 GO enrichment analysis of common targets associated with ferroptosis and cholangiocarcinoma (A-BP, B-CC, C-MF)

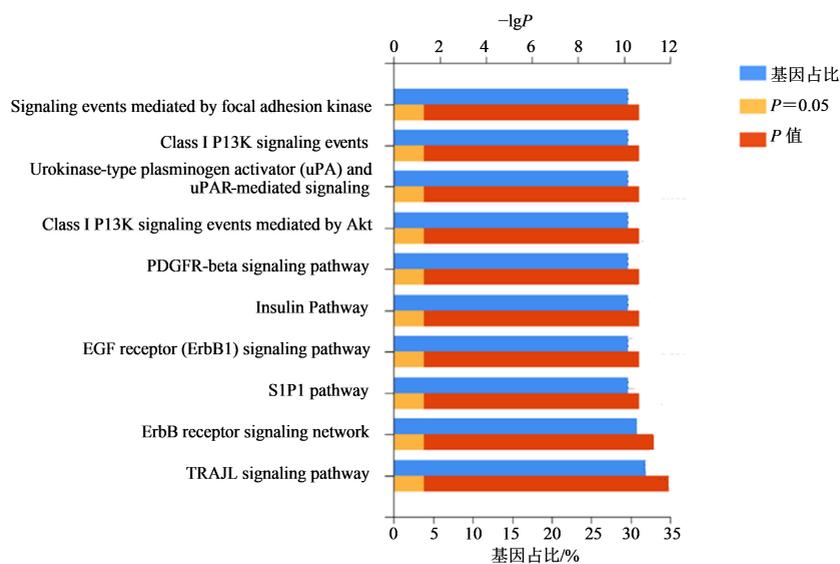


图 6 铁死亡与胆管癌疾病相关的共同靶点 KEGG 富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis of common targets associated with ferroptosis and cholangiocarcinoma

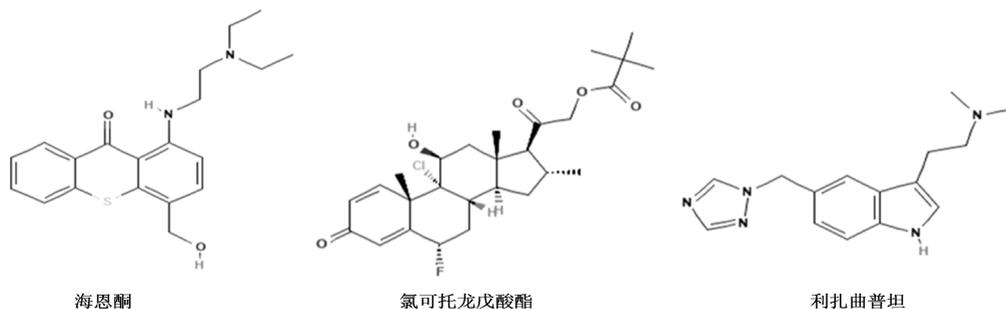


图7 通过铁死亡途径治疗胆管癌3种潜在小分子药物(cMAP数据库)

Fig. 7 Three potential small-molecule drug associated with the treatment of cholangiocarcinoma by ferroptosis pathway (cMAP database)

表2 cMAP数据库高通量筛选的潜在通过铁死亡治疗胆管癌的小分子药物成分信息

Table 2 High throughput screening of small-molecule drug components for treatment of cholangiocarcinoma through intervention of ferroptosis in cMAP database

化合物英文名称	化合物中文名称	分子式	相对分子质量	常见应用
hycanthone	海恩酮	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	356.50	治疗曼氏血吸虫病 <sup>[7]</sup>
clocortolone-pivalate	氯可托龙戊酸酯	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> ClFO <sub>5</sub>	495.00	治疗皮肤炎症以及对糖皮质激素敏感的皮肤瘙痒 <sup>[8]</sup>
rizatriptan	利扎曲普坦	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub>	269.34	治疗偏头痛急性发作 <sup>[9]</sup>

应的靶点结合能均为负数,提示其药物与靶点可自发的发生结合,一般认为结合能越低,配体与受体结合的构象就越稳定,发生作用的可能性就越大。通过分子对接结果分析得出:氯可托龙戊酸酯与其他2种成分相比,对3个潜在核心靶点的结合能力更强,从而提示其有望通过铁死亡途径治疗胆管癌相关疾病,值得深入研究。分子对接结果具体见表3与图8。

表3 3种小分子药物与3个核心靶点分子对接结合能

Table 3 Molecular docking energy values between three small molecule drug and three core targets

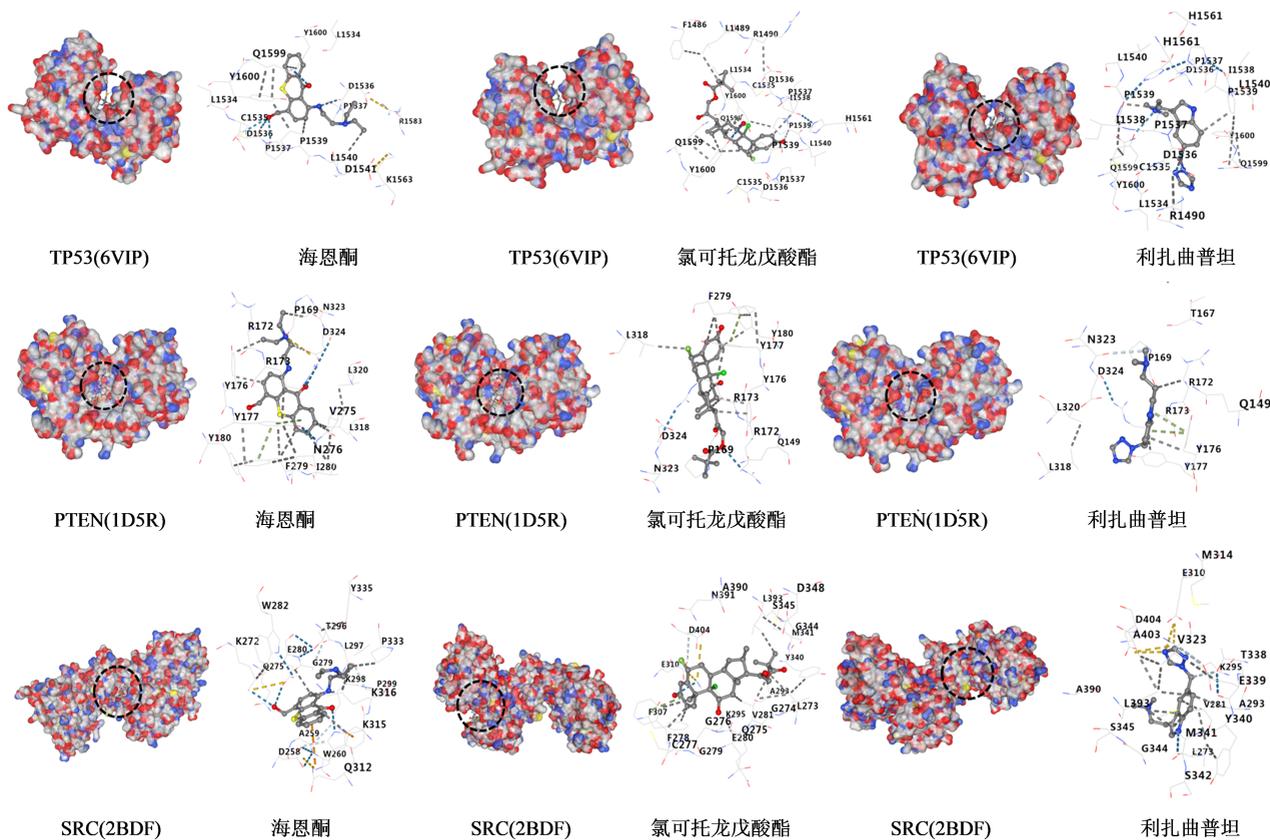
化合物名称	结合能/(kJ·mol <sup>-1</sup> )		
	TP53 (6VIP)	PTEN (1D5R)	SRC (RBDF)
海恩酮	-26.36	-30.54	-31.38
氯可托龙戊酸酯	-33.47	-36.40	-35.15
利扎曲普坦	-23.85	-27.61	-28.45

### 3 讨论

胆管癌作为一种疑难杂症,近些年的发病率及死亡率在世界范围内呈逐渐上升趋势。胆管癌根据原发的解剖学位点可分为3个亚型:肝内胆管癌、肝周胆管癌和远端胆管癌<sup>[10-11]</sup>。胆管癌是仅次于肝细胞癌的第2大原发性肝脏恶性肿瘤,约占所有原发性肝脏肿瘤的15%和胃肠道肿瘤的3%<sup>[12-13]</sup>。胆管癌通常早期无症状,确诊时已经是晚期,这导致

了治疗方法的局限以及不良愈后<sup>[10, 14]</sup>。尽管对于胆管癌的意识、认知、诊断以及治疗有了改善,但在过去10年中患者的愈后并没有显著提高,切除术后5年生存率与肿瘤复发率仍然很高。因此,深入研究探索针对胆管癌的新治疗靶点,并寻找新的治疗方案,对于其今后的防治具有十分重要的意义。

铁死亡是一种铁离子依赖性的细胞程序性死亡方式,其最重要的特征是脂质活性氧的异常增多。由于肿瘤细胞具有较高的铁离子含量和ROS水平,其相较于普通细胞更易发生铁死亡。越来越多的研究证据表明铁死亡具有抑制肿瘤的作用,可用于肿瘤的治疗<sup>[15]</sup>。本研究通过生物信息学分析筛选得到从铁死亡途径治疗胆管癌的潜在重要靶点有TP53、PTEN、SRC、RELA、EZH2、BECN1、MAPK1、NRAS、MAPK9、TGFB1、MUC1。其生物学功能以及信号通路富集分析结果主要包括TRAJL分子信号通路、ErbB受体相关信号通路、S1P1分子信号通路、胰岛素相关信号通路、转录调控相关过程、凋亡与细胞增殖、细胞对药物反应等。肿瘤抑制基因Tp53编码p53,是一个关键的转录因子,具有广泛的靶基因组合。在DNA损伤和致癌基因激活时,p53的诱导和稳定功能可诱导细胞周期停滞、凋亡或衰老,同时p53在调节细胞代谢的不同方面发挥了关键作用<sup>[16]</sup>。MAPK1又名ERK2,为MAPK家族的亚族之一,可使组织的成纤维细胞过



黑色虚线圈表示结合口袋、不同颜色的虚直线表示配体与氨基酸位点间存在潜在弱键相互作用

black dashed circles represent binding pockets, and virtula lines of different colors represent potential weak bond interactions between ligands and amino acid sites

图8 3种小分子化合物与相关核心靶点的分子对接示意图

Fig. 8 Schematic diagram of molecular docking of three small-molecule compounds with relevant core targets

度增殖,因此其亦作为抗肿瘤的潜在重要靶点。同时,通过TIMER数据库分析发现,肿瘤免疫逃逸可能参与了上述核心靶点介导的胆管癌致癌过程。

cMAP数据库(<https://clue.io/query>)是一个基因表达的数据库,由哈佛大学、剑桥大学和麻省理工学院研究人员共同构建,其利用不同干扰物(包括小分子)处理人类细胞后的基因表达差异,建立1个干扰物、基因表达和疾病相互关联的生物应用数据库。研究团队认为以基因表达谱所建立的基因、疾病与药物的关联性,可协助研究者在药物研发领域上,快速利用基因表达谱数据比对出与疾病高相关性的药物、推论大部分药物分子的主要结构,并能够归纳出药物分子可能的作用机制。本研究利用“药物重定位”的思路通过使用cMAP数据库高通量筛选潜在的通过干预铁死亡途径治疗胆管癌的潜在小分子药物。药物重定位是指扩大已有药物的使用范围,将原本用于治疗某一疾病的疗法应用到其他疾病的治疗中的过程。近年来这一策略变得越来越重要,相比起传统的药物开发过程,该方

法有一个显著的优势:用于重定位的药物均已经历过大量的毒性和临床试验,它们的安全性是公认的,由不良反应导致的失败风险大大降低。本研究从排名前30的成分中,通过筛选确定具有明确化学结构式的小分子化合物,共找出3个成分:海恩酮、氯可托龙戊酸酯和利扎曲普坦。目前相关报道表明,上述药物具有较好的抗肿瘤活性<sup>[17-19]</sup>,推测对胆管癌具有潜在的“老药新用”方面的治疗作用。而分子对接结果显示,氯可托龙戊酸酯对3个潜在核心共同作用靶点的结合普遍较其余小分子成分强,从而体现出了该小分子与筛选出的铁死亡相关靶点和通路之间存在潜在关联性,其有望通过干预铁死亡途径治疗胆管癌相关疾病<sup>[20]</sup>。

本研究通过生物信息学分析得到了从铁死亡角度治疗胆管癌的靶点及相关药物成分,筛选到3个小分子药物及关键靶点11个,其中氯可托龙戊酸酯具有潜在的干预铁死亡,从而发挥治疗胆管癌的作用。但筛选到的这3个药物是否能明确成为治疗胆管癌的小分子药物及其发挥作用的具体机制,后

续仍需要实验探究和证明。本研究通过生物信息学方法从铁死亡角度切入,筛选潜在治疗胆管癌的药物成分及靶点,为胆管癌治疗药物的开发提供了新的视角和方向,也适合在其他疾病中推广应用,在安全性已经确证的老药中发现新用途,将更快地研发出治疗难治疾病的新药,对于药物的临床研究及应用具有很重要的指导意义。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 虞晶晶, 穆丹, 朱庆丰. 铁死亡研究进展与恶性肿瘤治疗 [J]. 河北医科大学学报, 2022, 43(3): 363-367.  
Yu J J, Mu D, Zhu Q F. Research progress on ferroptosis and treatment of malignant tumors [J]. J Hebei Med Univ, 2022, 43(3): 363-367.
- [2] Nie Q, Hu Y, Yu X, et al. Induction and application of ferroptosis in cancer therapy [J]. Cancer Cell Int, 2022, 22(1): 1-19.
- [3] Tang W, Chen Z, Zhang W, et al. The mechanisms of sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma: theoretical basis and therapeutic aspects [J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 1-15.
- [4] Wu Y, Yu C, Luo M, et al. Ferroptosis in cancer treatment: another way to Rome [J]. Front Oncol, 2020: 1924.
- [5] Li D, Li Y. The interaction between ferroptosis and lipid metabolism in cancer [J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 108.
- [6] Han J Y, Ahn K S, Baek W K, et al. Usefulness of bile as a biomarker via ferroptosis and cysteine prenylation in cholangiocarcinoma; role of diagnosis and differentiation from benign biliary disease [J]. Surg Oncol, 2020, 34: 174-181.
- [7] Guzman M, Rugel A, Tarpley R S, et al. Molecular basis for hycanthone drug action in schistosome parasites [J]. Mol Biochem Parasitol, 2020, 236:111257.
- [8] Kircik L H, Del Rosso J Q. The treatment of inflammatory facial dermatoses with topical corticosteroids: Focus on clocortolone pivalate 0.1% cream [J]. J Drugs Dermatol, 2012, 11(10): 1194-1198.
- [9] 胡微. 苯甲酸利扎曲普坦联合针灸治疗急性发作期偏头痛的临床观察 [J]. 中国实用医药, 2016, 11(5): 191-192.  
Hu W. Clinical observation on rizatriptan benzoate combined with acupuncture and moxibustion in treatment of migraine in acute attack [J]. China Prac Med, 2016, 11(5): 191-192.
- [10] Banales J M, Cardinale V, Carpino G, et al. Expert consensus document: Cholangiocarcinoma: current knowledge and future perspectives consensus statement from the European Network for the Study of Cholangiocarcinoma (ENS-CCA) [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2016, 13(5): 261-280.
- [11] Rizvi S, Khan S A, Hallemeier C L, et al. Cholangiocarcinoma-evolving concepts and therapeutic strategies [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2018, 15(2): 95-111.
- [12] DeOliveira M L, Cunningham S C, Cameron J L, et al. Cholangiocarcinoma: Thirty-one-year experience with 564 patients at a single institution [J]. Ann Surg, 2007, 245(5): 755-762.
- [13] Nakeeb A, Pitt H A, Sohn T A, et al. Cholangiocarcinoma. A spectrum of intrahepatic, perihilar, and distal tumors [J]. Ann Surg, 1996, 224(4):463-473.
- [14] Andersen J B, Spee B, Blechacz B R, et al. Genomic and genetic characterization of cholangiocarcinoma identifies therapeutic targets for tyrosine kinase inhibitors [J]. Gastroenterology, 2012, 142(4): 1021-1031.
- [15] Jiang X, Stockwell B R, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. Nat Rev Mol Cell Bio, 2021, 22(4): 266.
- [16] Chen S, Thorne R F, Wu M. TP53, TP53 Target Genes (DRAM, TIGAR), and Autophagy [J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1206:127-149.
- [17] Efferth T, Klett T, Mattern J, et al. Reversing multidrug resistance in L1210 tumor cells by hycanthone or chlorophenoxamine *in vitro* and *in vivo* [J]. Anticancer Res, 1991, 11(3): 1275-1279.
- [18] Hartman P E, Hulbert P B. Genetic activity spectra of some antischistosomal compounds, with particular emphasis on thioxanthenones and benzothioopyranoindazoles [J]. J Toxicol Environ Health, 1975, 1(2): 243-270.
- [19] Sahu J K, Ganguly S, Kaushik A. Triazoles: A valuable insight into recent developments and biological activities [J]. Chin J Nat Med, 2013, 11(5): 456-465.
- [20] Archer S, Zayed A H, Rej R, et al. Analogues of hycanthone and lucanthone as antitumor agents [J]. J Med Chem, 1983, 26(9): 1240-1246.

[责任编辑 刘东博]