

• 数据挖掘与循证医学 •

卵巢癌肿瘤微环境关键基因遴选及守正创新中药方预测

杨志城¹, 孙彩虹¹, 李瑶瑶², 叶亮³, 叶冠^{1*}

1. 上海医药集团中央研究院 中药研究所, 上海 201203

2. 宁波市药品检验所 中药室, 浙江 宁波 315048

3. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 211198

摘要: **目的** 通过生物信息学技术遴选干预卵巢癌的关键基因并分析其临床价值, 结合中医理论预测潜在治疗 OV 的守正创新中药组方并分析其作用机制。 **方法** 首先, 从 TCGA 数据库下载卵巢癌活检基因表达数据, 使用 Estimate 计算肿瘤微环境中基质得分 (stromal score), 以中位数为标准分为高、低评分 2 组, 采用 Limma 包以 $|\log_2(\text{fold change})| > 2$ 、 $P < 0.05$ 为标准筛选显著差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), 通过 ClusterProfiler 包对 DEGs 进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。DEGs 导入 STRING 数据库中进行蛋白互作网络分析, 结果通过 Cytoscape 中插件 MCODE、cytoHubba 分析获取关键基因。其次, 从生存分析、差异表达、免疫细胞浸润、基因集变异分析 (gene set variation analysis, GSVA) 评分等角度验证关键基因的临床价值。最后, 将关键基因导入 Coremine Medical 数据库预测具有潜在治疗作用的创新中药组合, 基于卵巢癌病机筛选核心中药用药模式及药味作为守正中药组合, 整合 2 部分作为守正创新中药方, 采用中药复方网络药理学的方法分析其作用机制。 **结果** 获取卵巢癌患者活检数据 381 例, 以中位基质得分 (-312.742 068 5) 分为低 (190 例)、高 (191 例) 2 组, 筛选得到 DEGs 202 个。GO 富集分析显示 DEGs 主要干预体液免疫应答、补体激活、吞噬功能等生物过程; 免疫球蛋白复合物、质膜组成、T 细胞受体复合物等细胞组成; 抗原结合、免疫球蛋白受体结合、整合素结合等分子功能。KEGG 富集分析显示 DEGs 主要干预信号分子和相互作用、免疫系统、运输和分解代谢等功能信号通路。蛋白互作及 MCODE、cytoHubba 筛选得 V 型胶原 $\alpha 1$ (collagen type V alpha 1, COL5A1)、纤维连接蛋白 (fibronectin, FN1)、XI 型胶原 $\alpha 1$ (collagen type XI alpha 1, COL11A1)、I 型胶原 $\alpha 2$ (collagen type I alpha 2, COL1A2)、原纤蛋白 1 (fibrillin 1, FBN1)、I 型胶原 $\alpha 1$ (collagen type I alpha 1, COL1A1)、核心蛋白聚糖 (decorin, DCN)、V 型胶原 $\alpha 2$ (collagen type V alpha 2, COL5A2)、III 型胶原 $\alpha 1$ (collagen type III alpha 1, COL3A1)、基膜聚糖 (lumican, LUM) 10 个关键基因。临床价值分析显示, 关键基因表达显著影响卵巢癌患者无进展生存期、总生存期、进展后生存期。与正常群体相比, LUM、COL5A1、COL5A2、DCN、FBN1 表达显著增高, COL11A1 显著降低, 主成分分析显示关键基因表达可将正常人和卵巢癌患者分为 2 组。关键基因-GSVA-免疫细胞浸润关联分析显示, 关键基因表达、GSVA 评分与免疫细胞浸润评分显著相关且与多种免疫细胞均显著相关。预测得创新部分中药组合为南木香、千层塔、菴蔚子、猫爪草、杜仲、肿节风、红娘子、预知子、菫菜、鹿角, 守正部分中药组合为川芎、甘草、半夏、黄芩、当归、熟地黄、桔梗、大黄、茯苓。网络药理学分析显示, 守正创新中药方包含化合物 2 199 个, 对应去重后靶蛋白 1 749 个, 与 DEGs 交集 34 个。GO 和 KEGG 富集分析显示交集靶蛋白主要通过干预白细胞分化、血管生成、白细胞趋化等生物过程; 胶原蛋白 XI 型三聚体、含胶原蛋白的细胞外基质等细胞组成; 血小板衍生生长因子结合、趋化因子活性、糖胺聚糖结合等分子功能; 糖尿病并发症中的晚期糖基化终产物-晚期糖基化终产物受体 (advanced glycation end products-receptor for advanced glycosylation end products, AGE-RAGE)、白细胞跨内皮迁移、血管平滑肌收缩、癌症蛋白多糖、蛋白质的消化和吸收、松弛素、ECM 与受体的相互作用等信号通路表达作用于肿瘤微环境。 **结论** 基质细胞与卵巢癌发生发展过程中免疫应答、物质转运、耐药、能量代谢等生物过程密切相关, 靶向基质细胞为卵巢癌治疗提供可行策略, 中药“多成分、多靶点、多机制”的作用特性与其相适应, 为靶向肿瘤微环境的现代中药复方开发提供思路。

关键词: 卵巢癌; 肿瘤微环境; 生物信息学; 生存分析; 守正创新中药方; 南木香; 千层塔; 菴蔚子; 猫爪草; 杜仲; 肿节风; 红娘子; 预知子; 菫菜; 鹿角; 川芎; 甘草; 半夏; 黄芩; 当归; 熟地黄; 桔梗; 大黄; 茯苓

中图分类号: Q811.4; TP18; R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)24-8499-18

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.24.018

收稿日期: 2024-05-20

基金项目: 上海医药中药传承和创新平台能力建设 (2020006)

作者简介: 杨志城 (1996—), 男, 硕士, 从事中药和天然药物的研发工作。Tel: 15657995175 E-mail: yangzhicheng@sphchina.com

*通信作者: 叶冠 (1974—), 男, 教授级高级工程师, 博士, 从事中药和天然药物的研发工作。

Tel: (021)61871700-8088 E-mail: yeg@sphchina.com

Selection of key genes in microenvironment of ovarian cancer and prediction of innovative traditional Chinese medicine prescriptions for maintaining integrity

YANG Zhicheng¹, SUN Caihong¹, LI Yaoyao², YE Liang³, YE Guan¹

1. Institute of Traditional Chinese Medicine, Central Research Institute of Shanghai Pharmaceutical Group, Shanghai 201203, China

2. Institute of Chinese Traditional Medicines, Ningbo Drug Inspection Institute, Ningbo 315048, China

3. Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract: Objective Through bioinformatics methods, we aim to screen out the key genes involved in the intervention of ovarian cancer (OV) and analyze their clinical value. Furthermore, based on traditional Chinese medicine (TCM) theory, we predict potential therapeutic herbal formulas and investigate their underlying mechanisms. **Methods** Download OA biopsy gene expression data from the TCGA database, use Estimate to calculate the stromal score in the tumor microenvironment, and divide it into high and low score groups using the median as the standard. Use the Limma package to calculate $|\log_2(\text{fold change})| > 2$, $P < 0.05$ was used as the standard to screen significantly differentially expressed genes (DEGs), and the DEGs were enriched using the ClusterProfiler package for gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. DEGs were imported into the STRING database for protein interaction analysis, and the results were imported into cytoscape using the plug-in MCODE and cytoHubba plug-ins to analyze and intersect to obtain key genes. The key genes' clinical value were verified from the perspectives of survival analysis, differential expression, immune cell infiltration, and gene set variation analysis (GSVA) scores. Key genes were introduced into the Coremine Medical database to predict innovative TCM combinations with potential therapeutic effects. Secondly, based on the pathogenesis of ovarian cancer, core TCM medication patterns and medicinal flavors were screened as a TCM combination. The two parts of the formula were integrated and the new formula was analyzed using the method of traditional Chinese medicine compound network pharmacology. mechanism of action. **Results** A total of 381 cases of OV patient biopsy data were downloaded, which were divided into two groups: low (190 cases) and high (191 cases) based on the median stromalscore (-312.742 068 5), 202 DEGs were screened. GO enrichment analysis showed that DEGs mainly interfere with biological processes such as humoral immune response, complement activation, and phagocytosis, as well as cellular components such as immunoglobulin complexes, plasma membrane components, and T cell receptor complexes, as well as antigen binding and immunoglobulin receptor binding, integrin binding and other molecular functions. KEGG enrichment analysis showed that DEGs mainly interfere with functional signaling pathways such as signaling molecules and interactions, immune system, transport, and catabolism. Protein interaction, MCODE, and cytoHubba screening resulted in collagen type V alpha 1 (COL5A1), fibronectin (FN1), collagen type XI alpha 1 (COL11A1), and type I collagen $\alpha 2$ (COL1A2), fibrillin 1 (FBN1), type I collagen $\alpha 1$ (COL1A1), decorin (DCN), collagen type V alpha 2 (COL5A2), collagen type III alpha 1 (COL3A1), and Lumican (LUM). Clinical value analysis shows that the expression of key genes significantly affects the progression-free survival, overall survival, and post-progression survival of patients with ovarian cancer. Compared with the normal group, the expression of *LUM*, *COL5A1*, *COL5A2*, *DCN*, and *FBN1* was significantly increased, and *COL11A1* was significantly decreased. Principal component analysis showed that the expression of key genes can divide normal and ovarian cancer into two groups. Key gene-GSVA-immune cell infiltration correlation analysis showed that key gene expression, GSVA score and were significantly correlated with infiltration score and significantly correlated with a variety of immune cells. The predicted innovative combinations of TCM are Nanmuxiang (*Aristolochia yunnanensis* Franch.), Qiancengta (*Lycopodium serratum* Thunb.), Chongweizi (*Motherwort Fruit*), Maozhuacao (*Ranunculus ternatus*), Duzhong (*Eucommiae Cortex*), Zhongjiefeng (*Sarcandrae Herba*), Hongniangzi (*Huechys sanguinea* De Geer/*Huechys thoracica* Distant/*Huechys philaemata* Fabricius), Yuzhizi [*Akebia quinata* (Houtt.) Decne.], Jincai (*Viola verecunda* A. Gray), Lujiao (*Cervi Cornu*) and the traditional Chinese medicine combinations are Chuanxiong (*Chuanxiong Rhizoma*), Gancao (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*), Banxia (*Pinelliae Rhizoma*), Huangqin (*Scutellariae Radix*), Danggui (*Angelicae Sinensis Radix*), Shudihuang (*Rehmanniae Radix Praeparata*), Jiegeng (*Platycodonis Radix*), Dahuang (*Rhei Radix et Rhizoma*), Fuling (*Poria*). Network pharmacology analysis showed that the new formula contains 2 199 compounds, corresponding to 1 749 target proteins after deduplication, and 34 intersections with DEGs. GO and KEGG enrichment analysis showed that the intersection target proteins mainly interfere with biological processes such as leukocyte differentiation, angiogenesis, and leukocyte chemotaxis; collagen type XI trimers, collagen-containing extracellular matrix and other cellular components; platelet-derived growth factor binding,

chemokine activity, glycosaminoglycan binding and other molecular functions; advanced glycation end products-receptor for advanced glycosylation end products in diabetic complications, leukocyte transendothelial migration, vascular smooth muscle contraction, cancer proteoglycans, protein digestion and absorption, relaxin, ECM and receptors The interaction and expression of signaling pathways act on the tumor microenvironment. **Conclusion** The stromal cells are intimately involved in biological processes such as immune response, material transport, drug resistance, and energy metabolism during the development and progression of OV. Targeting the stromal cells represents a viable therapeutic strategy for OV treatment. The unique characteristics of TCM, including its multi-component, multi-target, and multi-mechanism approach, are well-suited for this purpose. The present study provides insights into the potential development of modern TCM formulations that target the tumor microenvironment, offering new directions for the exploration of therapeutic options in ovarian cancer.

Key words: ovarian cancer; tumor microenvironment; bioinformatics; survival analysis; innovative traditional Chinese medicine prescriptions for maintaining integrity; *Aristolochia yunnanensis* Franch.; *Lycopodium serratum* Thunb.; *Motherwort Fruit*; *Ranunculus ternatus* Thunb.; *Eucommiae Cortex*; *Sarcandrae Herba*; *Huechys sanguinea* (De Geer); *Akebia quinata* (Houtt.) Decne.; *Viola verecunda* A. Gray; *Cervi Cornu*; *Chuanxiong Rhizoma*; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*; *Pinelliae Rhizoma*; *Scutellariae Radix*; *Angelicae Sinensis Radix*; *Rehmanniae Radix Praeparata*; *Platycodonis Radix*; *Rhei Radix et Rhizoma*; *Poria*

卵巢癌 (ovarian cancer, OV) 是指起源于女性卵巢上皮细胞的恶性肿瘤, 常发生于围绝经期和绝经后妇女, 在女性恶性肿瘤中病死率最高且发病率和死亡率逐年上升, 我国 OV 发病率居全球第 1 位^[1]。OV 初期症状不明显, 进展期表现出非特异性症状如消化不良、腹胀、早饱、排便习惯改变、尿频等, 中后期表现出由于肿瘤增大或者腹水导致的盆腔痛、贫血、恶病质及腹部肿胀等症状。因早期难以发现, III 期或 IV 期治疗后 5 年生存率仅为 40%, 且由于受累组织难以全部切除、预后较差, 复发率高达 70%^[2]。OV 的主要治疗手段包括全子宫及双侧附件切除术、肿瘤细胞减灭术及术后全身性化疗及聚二磷酸腺苷核糖聚合酶 (polyadenosine diphosphate ribose polymerase, PARP) 抑制剂 (PARP inhibitor, PARPi) 干预等^[3-4]。随着 PARPi 在临床上的广泛应用, 其耐药性问题也备受重视。因而亟需寻找新的干预靶点、作用机制及治疗药物或是寻找可减少或逆转 PARPi 的治疗药物及方案, 使更多的 OV 患者可以从抗癌治疗中更长期的获益。肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 是一个复杂且不断发展的肿瘤发生、发展的系统微环境, 包括周围血管、免疫细胞、成纤维细胞、各种信号分子和细胞外基质等^[5]。基质细胞 (stromal cell) 是器官中结缔组织的一种组分, 包括成纤维细胞、周细胞、内皮细胞、免疫细胞、炎症细胞等, 参与的多种生物过程如组织缺氧和酸中毒、间质高压形成、生长因子和蛋白水解酶产生及免疫炎症反应等, 在肿瘤的发生、发展、转移和治疗耐药中具有重要影响。癌症进展时, 基质纤维化被激活, 成纤维细胞

和间充质干细胞形状、表达水平发生改变, 生长因子、细胞因子和趋化因子分泌增加, 细胞外基质变得致密且刚性, 限制药物通过, 干预化疗/放疗药物、靶向治疗药物、激素拮抗剂耐药性等路径影响药物疗效^[6]。因此, 理解肿瘤微环境中细胞及间质间的相互作用, 设计靶向癌细胞-基质相互协同互补的联合疗法可为肿瘤的诊断和治疗提供新途径。

生物信息学技术是利用应用数学、信息学、统计学和计算机科学的方法研究生物学的问题, 可高通量处理数据并筛选潜在的生物标志物、靶标等, 为新药研发和精准医疗等提供重要技术支持及依据^[7]。越来越多的研究表明, 癌症的发生和进展从来都不仅仅是一个靶点、一种机制引起, 而传统医学药物具有多靶点、多机制协同作用改善症状的特点, 和同领域药物相比具备更低的耐药性和毒性等优点, 更有利于患者的长期使用。“癌毒”学说是于 20 世纪末国医大师周仲瑛针对肿瘤的难治性提出, 核心理念在于癌毒为恶性肿瘤发生发展过程中特殊病理因素, 癌毒属于中医学“毒邪”的范畴, 是在人体脏腑功能失调的基础上产生的一种具有猛烈性、顽固性、流窜性、隐匿性、损正性的病邪, 为导致肿瘤发生的特异性致病因素, 基于传统医学研究者指出 OV 病机为“肝肾两虚, 湿浊瘀毒”^[8]。目前未见基于 OV 肿瘤微环境干预的中药组方预测报道, 因此本研究基于生物信息学技术筛选干预 OV 基质细胞含量的关键基因, 多方验证关键基因的临床价值并基于数据库映射和病因病机筛选潜在的中药组方, 为基于基质细胞的 OV 干预药物开发提供思路和方向。

1 材料与方法

1.1 数据库及分析软件

癌症基因组图谱 (Cancer Genome Atlas, TCGA, <https://portal.gdc.cancer.gov/>)、KM plotter (<http://kmpplot.com/analysis/>)^[9]、Genecards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、BAT-MAN-TCM 数据库 (<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm>)、GSCA 数据库 (<https://guolab.wchscu.cn/GSCA/#/>)^[10]、GEPIA 数据库 (<http://gepia2.cancer-pku.cn/#about>)^[11]、R 4.1.0、ClusterProfiler 4.10.3^[12]、DOSE 3.26.2^[13]、Limma 3.58.1、ggplot 2.3.3.0、enrichplot 1.6.1、Cytoscape 3.7.2 等软件。

1.2 数据下载及整理

从 TCGA 数据库中下载 OV RNA FPKM (fragments per kilobase per million) 表达数据及患者的临床信息。经检验下载所得 381 例活检数据均为 OV 患者病例。采用 ESTIMATE (estimation of stromal and immune cells in malignant tumour tissues using expression data) 计算基质细胞得分 (stromal score) 并以中位数为标准将患者分为高、低基质细胞得分组。

1.3 差异表达基因及富集分析

采用 limma 包以 $|\log_2(\text{fold change})| \geq 2$, $P < 0.05$ 为筛选标准, 筛选高、低基质细胞得分组差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), 并以热图及火山图进行可视化。以 $P < 0.05$ 、 $q < 0.05$ 为筛选标准, 采用 ClusterProfiler 包分析 DEGs 涉及的分子功能 (molecular function, MF)、生物过程 (biological process, BP)、细胞成分 (cell component, CC) 以及通路。

1.4 关键基因筛选

1.4.1 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) PPI 是指 2 个或 2 个以上的蛋白质分子通过非共价键形成蛋白质复合体 (protein complex) 的过程。将 DEGs 导入 STRING 数据库, 设置物种为 “homo sapiens” 进行检索并匹配对应蛋白, 设置最低要求的交互分数 (minimum required interaction score) 为最高置信度 (0.900)、隐藏网络中未连接的节点 (hide disconnected nodes in the network), 分析蛋白之间的相互作用, 结果导出用 Cytoscape 软件可视化并分析。

1.4.2 分子复合物检测 (molecular complex detection, MCODE) MCODE 基于 vertex-

weighting 方案发现图中局部高密度区域, 通过分析庞大的网络中边和节点的关系, 寻找出关键的子网络和基因^[14]。设置度 (degree) cutoff=2, 节点分值 (node score) cutoff=0.2, k-core=2, max.depth=100, 筛选关键基因。

1.4.3 cytoHubba 分析 cytoHubba 提供了多种拓扑算法用于预测和探索给定网络中的关键节点和子网络, 本研究采用最大团中心性 (maximal clique centrality, MCC) 法进行分析^[15], 提取排名前 10 基因作为关键基因。

1.4.4 关键基因的确定 将 MCODE 及 cytoHubba 筛选所得关键基因取交集, 为最终关键基因。

1.5 关键基因临床价值分析

关键基因是基于 PPI 网络拓扑结构分析得到, 缺乏在 OV 患者中实际临床价值表征, 因此本研究从关键基因表达、免疫细胞浸润、基因集变异分析 (gene set variation analysis, GSEA) 评分、临床预后 4 方面进行验证。

1.5.1 关键基因表达 基于 GEPIA 数据库匹配 GTEx (genotype-tissue expression) 中正常群体表达信息, 设置 $|\log_2\text{FC}| \geq 2$, $P < 0.05$ 分析显著性, 并进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)。

1.5.2 基因表达-免疫细胞浸润-GSEA 评分^[10,16] 登录 GSCA 数据库, 将关键基因键入搜索框, 设置肿瘤类别为 “OV”, 选择 “expression” “immune” “immune infiltration & mRNA expression” “immune infiltration & GSEA score” 模块进行分析。

1.5.3 临床预后分析 关键基因输入 Kaplan-Meier Plotter^[9,17]中, 根据质控标准, 剔除偏移探针, 选择最佳的微阵列探针组来代表基因。

1.6 中药组方预测及作用机制分析

参考刘洋等^[18]研究, 将关键基因导入 Coremine Medical 数据库映射出最具潜在干预作用 (significance) 的传统中药作为组方中创新部分。基于 OV “癌毒” 理论及病机筛选中药成方中最核心的用药模式及药味, 构成组方中的守正部分。将新组方中中药键入 BAT-MAN-TCM 数据库中, 设置 Score cutoff=0.84 (LR=80.88), 调整后 P 值 < 0.05 , 筛选得药物靶点^[19]。将药物靶点与 DEGs 取交集并将交集靶点导入 Cytoscape 中使用插件 Cluego 进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 设置

$P < 0.05$, 根据图形具现化需求调节 tree level 值, 分析预测新组方作用机制。

2 结果

2.1 DEGs 及富集分析

381 例 OV 患者年龄及生存周期分布如图 1 所示。按照基质细胞得分中位数 (-312.742 068 5) 将

381 例 OV 患者分为低基质细胞得分组 ($n=190$)、高基质细胞得分组 ($n=191$), 采用 Limma 包以 $|\log_2FC| \geq 2$ [FC 表示差异倍数 (fold change)], $P < 0.05$ 为标准筛选得 202 个 DEGs, 其中 92 个 DEGs 表达显著降低, 110 个 DEGs 表达显著增高。热图及火山图如图 2 所示。

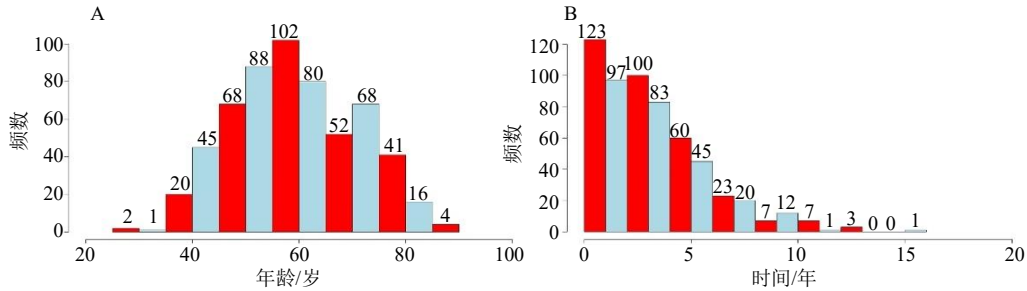


图 1 年龄分布 (A) 及生存周期分布 (B)

Fig. 1 Distribution of age (A) and survival period (B)

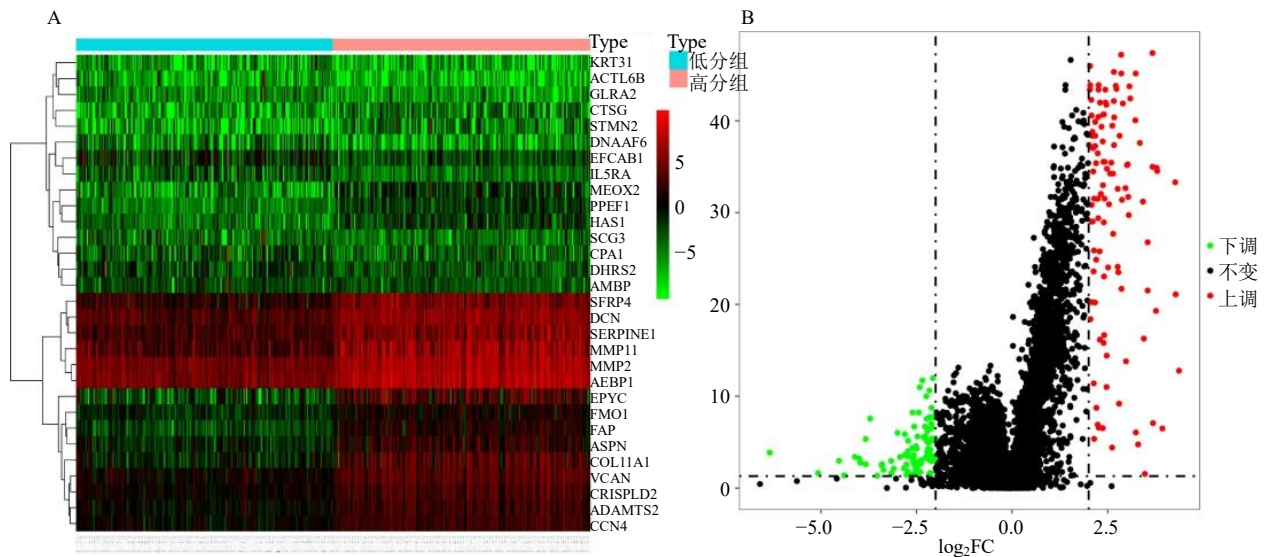


图 2 DEGs 热图 (A) 及火山图 (B)

Fig. 2 Heat map (A) and volcano map (B) of DEGs

利用 ClusterProfiler 包对 DEGs 进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析, 见图 3。GO 功能分析显示 DEGs 主要参与循环免疫球蛋白介导的体液免疫应答 (humoral immune response mediated by circulating immunoglobulin)、经典途径的补体激活 (complement activation, classical pathway)、吞噬功能 (phagocytosis)、补体激活 (complement activation)、免疫球蛋白复合物 (immunoglobulin complex)、质膜外部组成 (external side of plasma membrane)、T 细胞受体复合物 (T cell receptor

complex)、抗原结合 (antigen binding)、免疫球蛋白受体结合 (immunoglobulin receptor binding)、整合素结合 (integrin binding) 等生物功能。KEGG 分析显示 DEGs 主要参与病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用 (viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor)、细胞因子-细胞因子受体相互作用 (cytokine-cytokine receptor interaction)、造血细胞谱系 (hematopoietic cell lineage)、趋化因子信号 (chemokine signaling pathway)、细胞黏附分子 (cell adhesion molecules)

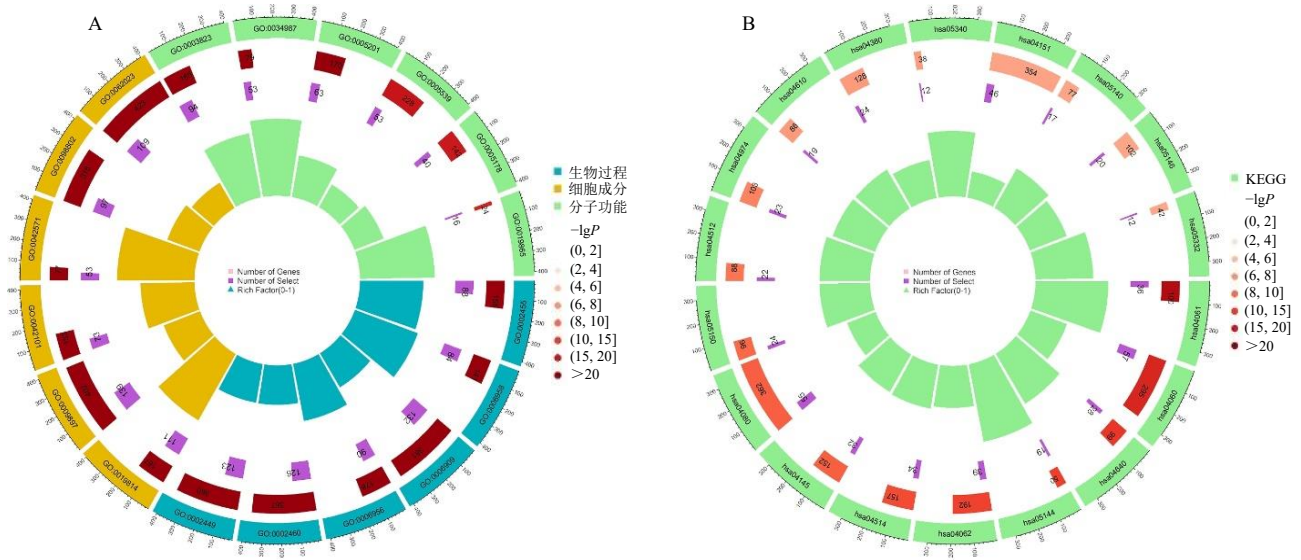


图 3 GO 功能 (A) 与 KEGG 通路富集分析 (B)

Fig. 3 Enrichment analysis of GO function (A) and KEGG pathway (B)

等通路, 主要涉及信号分子和相互作用、免疫系统、运输和分解代谢等功能类别。

2.2 关键基因筛选

DEGs 导入 STRING 数据库映射对应蛋白, PPI 网络分析得到 201 个节点、79 条边, PPI 富集 $P < 1.0 \times 10^{-16}$ 。PPI 网络导入 Cytoscape 中可视化, 并

采用 MCODE 和 cytoHubba 分析关键基因, 结果如图 4 所示。

选取 MCODE 筛选所得评分最高子网络(score=8.40), 该网络内基因最为关键和典型。其中V型胶原 $\alpha 1$ (collagen type V alpha 1, COL5A1) 为种子基因, 纤维连接蛋白 (fibronectin, FN1)、XI 型胶

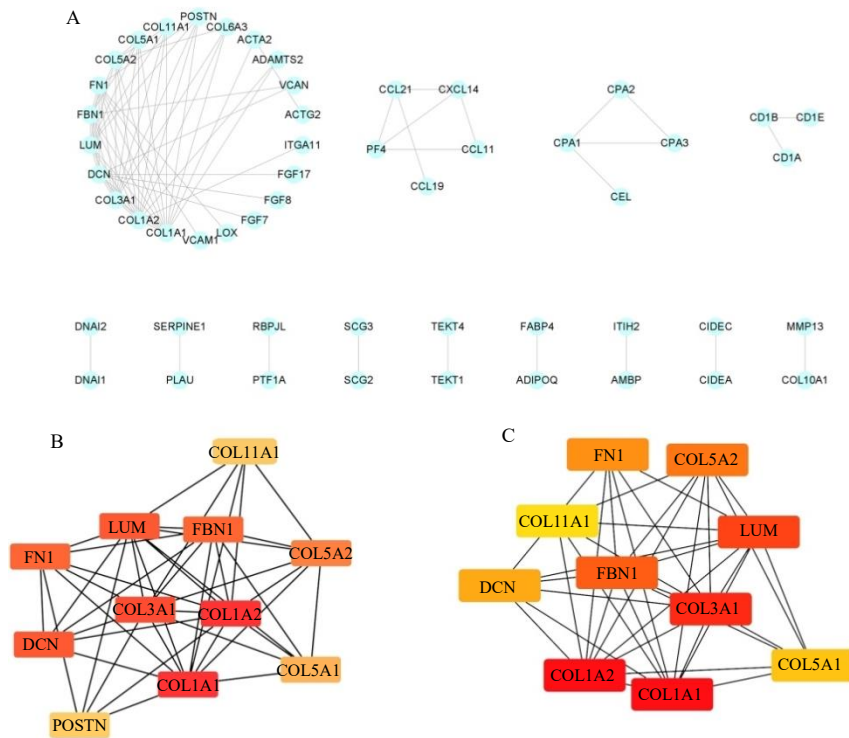


图 4 PPI 网络 (A)、MCODE (B)、cytoHubba (C) 分析

Fig. 4 Analyses of protein interaction network (A), MCODE (B), and cytoHubba (C)

原 $\alpha 1$ (collagen type XI alpha 1, COL11A1)、I 型胶原 $\alpha 2$ (collagen type I alpha 2, COL1A2)、原纤蛋白 1 (fibrillin 1, FBN1)、骨膜蛋白 (periostin, POSTN)、I 型胶原 $\alpha 1$ (collagen type I alpha 1, COL1A1)、核心蛋白聚糖 (decorin, DCN)、V 型胶原 $\alpha 2$ (collagen type V alpha 2, COL5A2)、III 型胶原 $\alpha 1$ (collagen type III alpha 1, COL3A1)、基膜聚糖 (lumican, LUM) 为聚集基因。采用 cytoHubba 中 MCC 法提取排名前 10 基因作为关键基因, 分别为 FN1、LUM、COL5A1、COL3A1、COL5A2、DCN、COL1A1、FBN1、COL1A2、COL11A1。

MCODE 及 cytoHubba 筛选所得关键基因取交

集, 得到交集基因 FN1、LUM、COL5A1、COL3A1、COL5A2、DCN、COL1A1、FBN1、COL1A2、COL11A1, 确定为最终关键基因。

2.3 关键基因临床价值验证

2.3.1 关键基因表达 为进一步验证关键基因在正常群体和 OV 患者卵巢组织中的表达差异, 基于 GEPIA 数据库匹配 GTEx 中正常群体表达信息, 设置 $|\log_2FC| \geq 2, P < 0.05$, 分析显著性并进行 PCA, 结果如图 5 所示, 与正常群体相比, OV 患者卵巢组织中 LUM、COL5A1、COL5A2、DCN、FBN1 表达显著增高, COL11A1 表达显著降低。PCA 显示, 关键基因表达在正常群体和 OV 患者中存在显著差异。

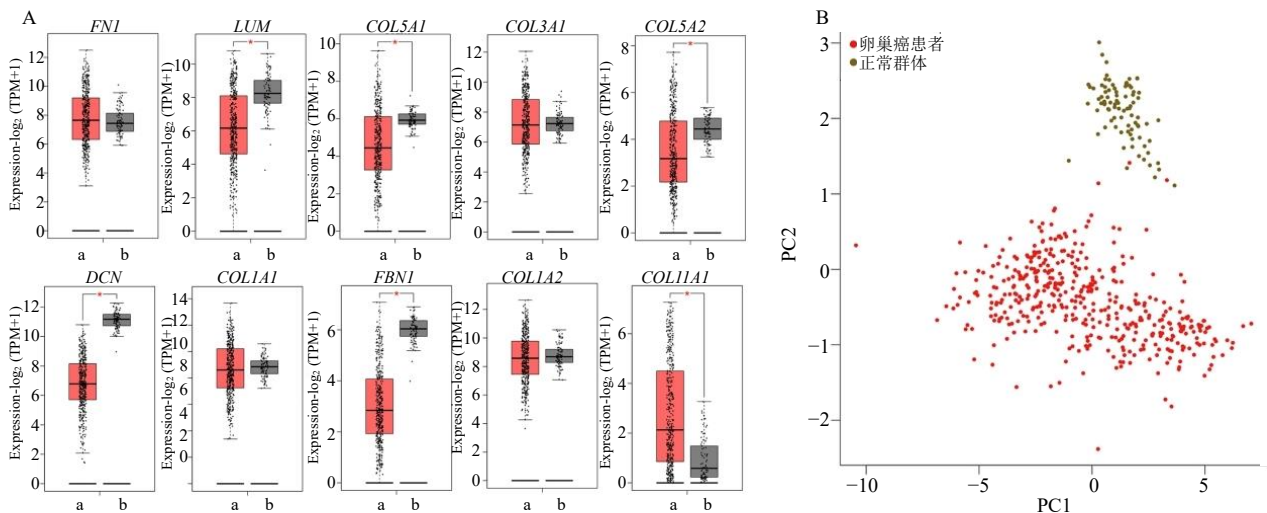


图 5 正常群体 (a) 和卵巢癌患者 (b) 中关键基因表达 (A) 和 PCA (B)

Fig. 5 Expression (A) of key genes in normal populations (a) and ovarian cancer patient (b) and PCA (B)

2.3.2 关键基因表达与免疫细胞浸润 已有研究表明, 基质作为肿瘤微环境中关键组分可通过多种机制阻碍抗肿瘤免疫和免疫治疗反应, 如抑制白细胞浸润、免疫细胞群体形成及诱导 T 细胞凋亡分子的产生、免疫抑制因子的分泌等。免疫细胞浸润是指免疫细胞 (如 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞等) 在组织内的积聚和聚集, 免疫细胞可以通过多种机制识别和攻击肿瘤细胞, 同时也可以调节其他免疫细胞的活动, 从而影响肿瘤的生长、扩散和治疗反应。GSVA 是一种基于生物信息学的分析方法, 可用于推断单个样品中基因集/通路的活性程度。GSVA 评分代表基因集表达的综合水平, 与基因集表达呈正相关。

本研究基于 GSCA 数据库通过构建关键基因表达-免疫浸润、免疫浸润-GSVA 评分的相关性,

分析关键基因表达对免疫细胞浸润的干预作用, 结果见图 6。关键基因表达水平与大多数免疫细胞的浸润呈正相关。其中 FN1、DCN、LUM 相关性更强, 与中央记忆型 T 细胞 (central memory T cell, TCM)、单核细胞 (monocyte, M)、适应性调节性 T 细胞 (iTreg)、辅助型 T 细胞 2 (T helper 2 cell, Th2)、滤泡辅助 T 细胞 (follicular helper T cell, Tfh)、巨噬细胞 (macrophage cell) 等浸润呈显著正相关; 与 B 淋巴细胞 (B cell)、中性粒细胞 (neutrophil, NE)、辅助性 T 细胞 17 (T helper cell 17, Th17) 等浸润呈显著负相关, 其中 LUM、DCN、FN1 相关性更强且影响更多类别的免疫细胞浸润, 见图 6-A。GSVA 评分代表基因集表达的综合水平, 与基因集的表达呈正相关。采用 GSVA 评分进一步分析免疫细胞浸润与关键基因集表达水平之间

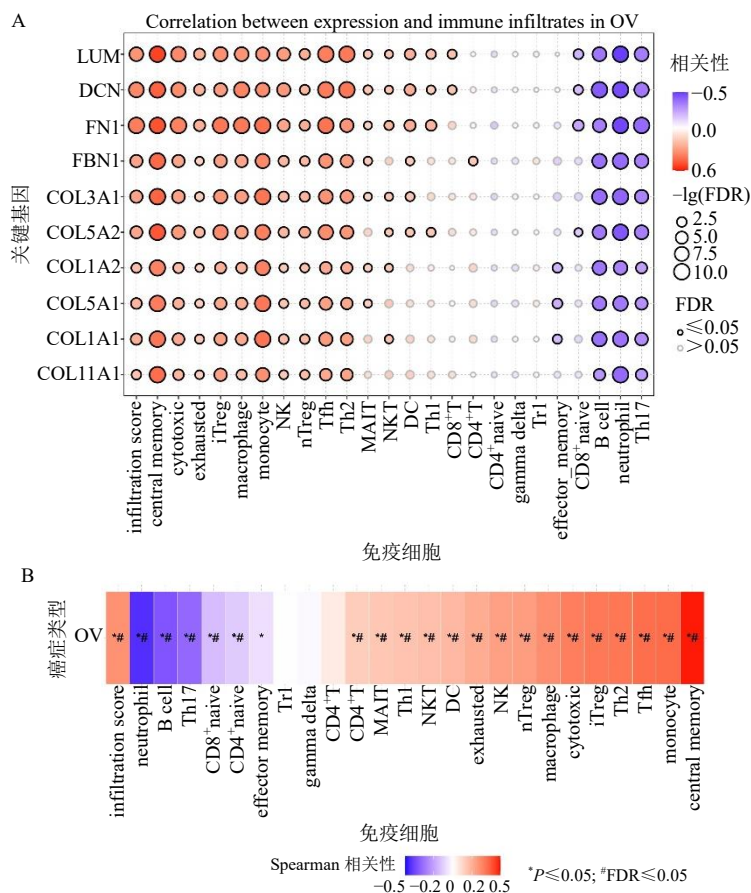


图 6 基因表达 (A)/GSVA 评分 (B) 与免疫细胞浸润

Fig. 6 Gene expression (A)/GSVA score (B) and immune cell infiltration

的关联, 关键基因表达水平与 TCM、M、Th2、Tfh、iTreg 等呈显著正相关, 与 NE、B 细胞、Th17 等呈显著负相关, 见图 6-B。

2.3.3 生存分析 将关键基因输入 Kaplan-Meier Plotter 中, 根据质控标准, 剔除偏移探针, 选择最佳的微阵列探针组来代表基因, 分析并绘制关键基因表达量对 OV 患者无进展生存期 (progression free survival, PFS, 图 7)、总生存期 (overall survival, OS, 图 8)、进展后生存期 (post progression survival, PPS, 图 9) 的影响, 患者生存信息数据集来源 GSE14764、GSE15622、GSE18520、GSE19829、GSE23554、GSE26193、GSE26712、GSE27651、GSE30161、GSE3149、GSE51373、GSE63885、GSE65986、GSE9891、TCGA。绘制 Kaplan-Meier 生存曲线并计算中位生存时间, 见表 1。

由图 7~9 及表 1 可知, 关键基因表达对 OV 患者 PFS、OS、PPS 均存在显著影响, 低表达量的群体中位生存周期及干预关键基因的表达对延长 OV 患者生存周期具有潜在的价值。

2.4 守正创新中药方预测

2.4.1 创新部分中药预测 关键基因与 Coremine Medical 数据库映射, 以 significance 为标准, 检索潜在治疗中药, 基于《中华本草》和《中国药典》2020 年版检索映射所得传统中药功能主治, 作为组方中创新部分, 结果见表 2。

2.4.2 守正部分中药预测 “癌毒”病机理论认为, 癌毒生于邪盛, 邪盛因于正虚。因此研究者提出 OV 是在肝肾两虚的基础上, 湿浊、瘀血、癌毒等病理因素相互搏结, 阻滞于卵巢而形成的有形肿块, 其核心病机为“肝肾两虚, 湿浊瘀毒”, 演变过程始于肝肾两虚, 继而精、气、血亏虚, 脉道失养, 因虚致瘀, 阻滞气机, 津液失布, 湿浊内生, 湿瘀互结, 癌毒内生, 癌毒损正, 又加重肝肾两虚。临床治疗当以抗癌解毒为核心, 祛瘀消癥为关键, 利湿化浊为要点, 培补肝肾为根本。张夏玲等^[8]提出 OV 核心病机为“肝肾两虚, 湿浊瘀毒”, 就上述思路检索传统中药成方, 分析核心药味作为组方中“守正”部分。

以“湿”为关键词检索得成方 846 首, 包含药

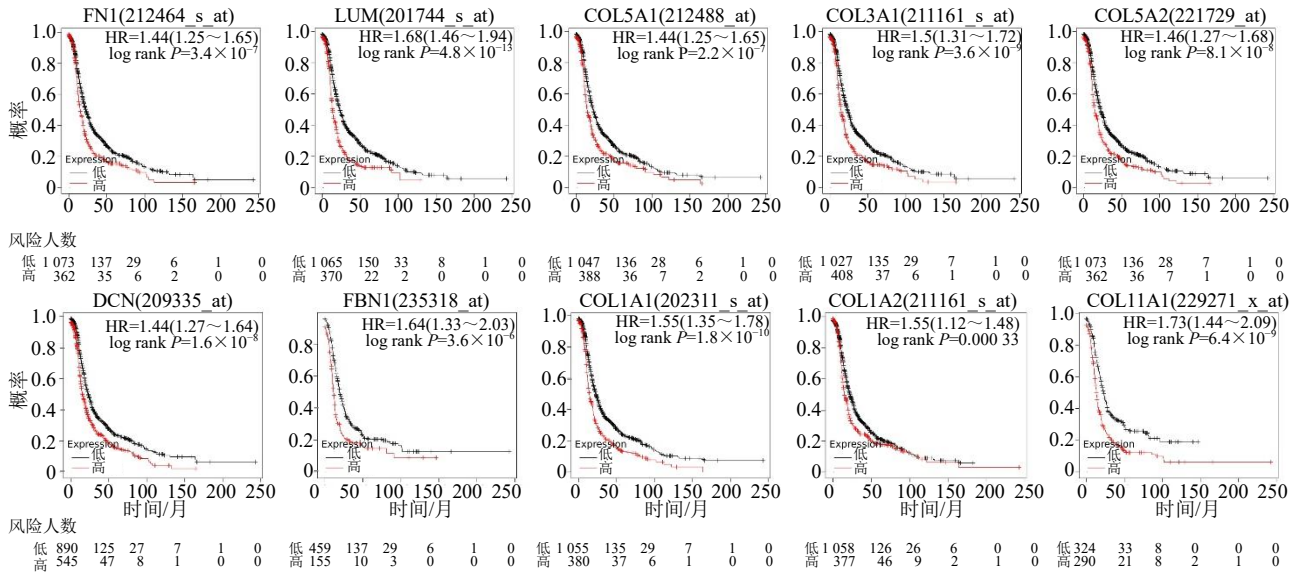


图 7 关键基因表达对 OV 患者无进展生存期的影响

Fig. 7 Effect of key genes expression on progression-free survival of OV patient

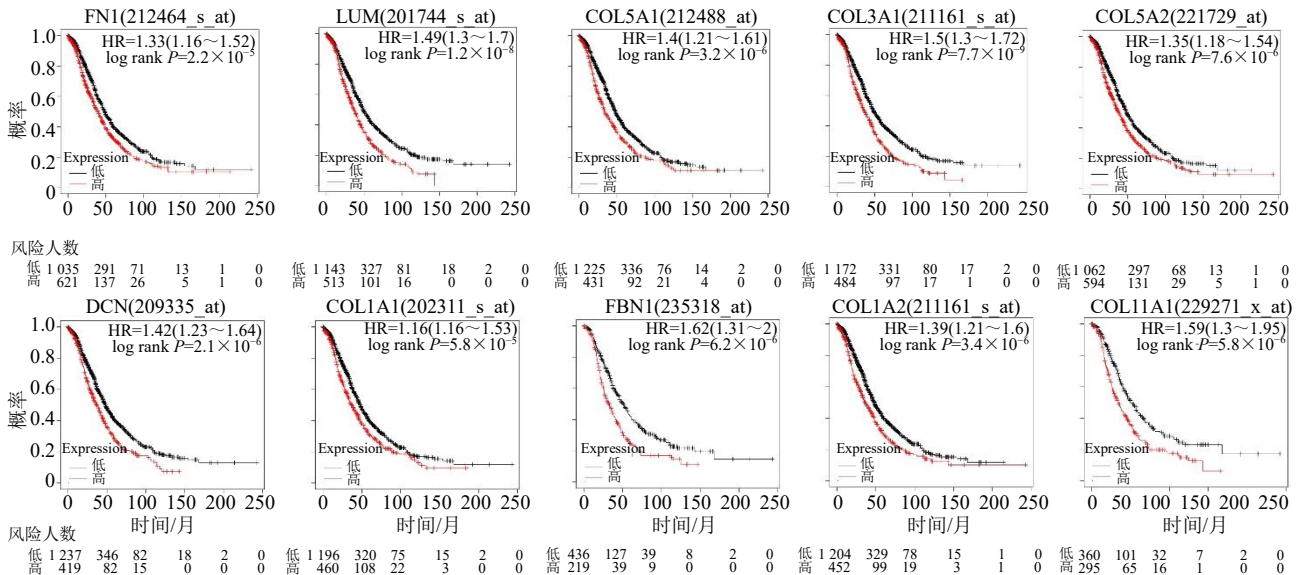


图 8 关键基因表达对 OV 患者总生存期的影响

Fig. 8 Effect of key genes expression on overall survival of OV patient

味 1 115 首；以“浊”为关键词检索得成方 83 个，包含药味 201 个；以“瘀”为关键词检索得成方 485 首，包含药味 717 个；以“毒”为关键词检索得成方 478 首，包含药味 640 个；以“肝肾”检索得成方 154 首，包含中药 309 个。提取核心用药模式，结果见图 10，用药模式频次见表 3。去重后川芎、甘草、半夏、黄芩、当归、熟地黄、桔梗、大黄、茯苓构成方中守正部分。

2.5 守正创新中药方作用机制研究

药物组合导入 BAT-MAN-TCM 中进行检索，设置 Target protein retrieval Score cutoff=0.84 (LR=80.88)，创新组 (new) 检索得化合物 715 个，对应去重后靶蛋白 1 268 个；守正组 (traditional) 检索得化合物 2 199 个，对应去重后靶蛋白 1 749 个，二者交集靶蛋白 1 078 个，合并去重后的守正创新中药方药物靶蛋白 1 939 个。守正创新方药物

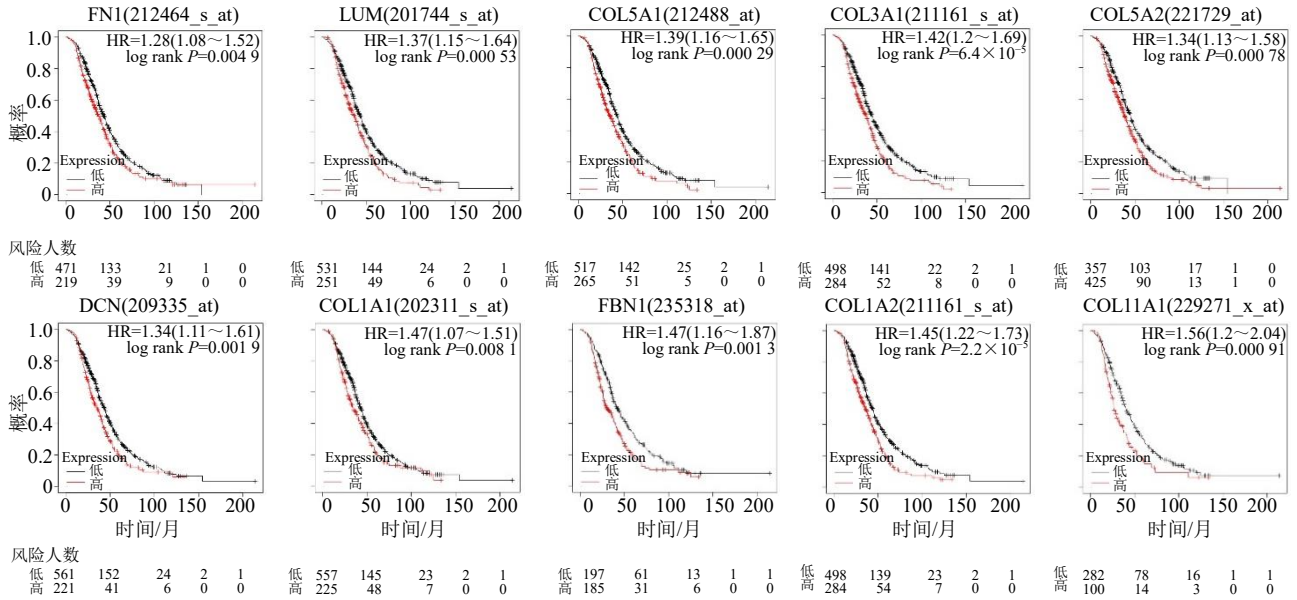


图 9 关键基因表达对 OV 患者进展后生存期的影响

Fig. 9 Effect of key genes expression on post progression survival of OV patient

表 1 关键基因表达对 OV 患者中位生存期的影响

Table 1 Effect of key genes expression on median survival in patients with OV

基因	无进展生存期/月		总生存期/月		进展后生存期/月	
	低表达人群	高表达人群	低表达人群	高表达人群	低表达人群	高表达人群
FN1	22.57	18.20	48.37	39.57	43.00	37.00
LUM	23.00	13.73	48.55	36.57	43.00	36.57
COL5A1	22.27	14.63	48.06	34.00	43.93	34.87
COL3A1	23.00	14.53	48.37	36.00	43.00	36.57
COL5A2	22.13	14.53	48.73	38.30	44.70	38.00
DCN	23.00	15.01	48.00	37.47	43.93	35.00
COL1A1	22.60	14.03	48.06	37.00	42.60	34.00
FBN1	19.19	11.53	50.03	33.00	41.89	29.90
COL1A2	22.23	15.00	48.00	36.00	44.00	35.52
COL11A1	23.00	13.00	50.97	34.00	40.00	26.33

表 2 关键基因映射中药

Table 2 Characteristic gene natural medicine combination

基因	中文名	拼音名称	significance	功能主治
FN1	南木香	nan mu xiang	1.08×10^{-4}	清热解毒、凉血消肿
LUM	千层塔	qian ceng ta	1.10×10^{-3}	清热解毒、燥湿敛疮、止血定痛散瘀、消肿
COL5A1	茺蔚子	chong wei zi	1.01×10^{-3}	活血调经、清肝明目
COL3A1	猫爪草	mao zhua cao	1.30×10^{-3}	散结、消肿
COL5A2	杜仲	du zhong	2.77×10^{-3}	补肝肾、强筋骨、降血压
DCN	肿节风	zhong jie feng	0.0122	清热凉血、活血消斑、祛风通络
COL1A1	红娘子	hong niang zi	1.24×10^{-3}	破瘀、散结、攻毒
FBN1	预知子	yu zhi zi	6.69×10^{-3}	疏肝和胃、活血止痛、软坚散结
COL1A2	菹菜	jin cai	1.02×10^{-3}	清热解毒、凉血消肿
COL11A1	鹿角	lu jiao	0.0165	温肾阳、强筋骨、行血消肿

化和吸收、松弛素、ECM 与受体的相互作用等信号通路表达。

3 讨论

目前免疫治疗虽在 OV 中研究较多,如免疫检查点抑制剂、光免疫疗法、固有免疫疗法、过继性 T 淋巴细胞免疫治疗、肿瘤疫苗和溶瘤病毒等,但疗效有限,有学者指出可能与肿瘤异质性、免疫抑制分子高表达、免疫细胞低浸润等有关^[20-22],肿瘤微环境在动态调节癌症进展和影响肿瘤治疗结果中的重要性得到了广泛认可,如诱导增殖、抑制细胞凋亡、诱导血管生成、避免缺氧、抑制免疫系统以及远处转移等。恶性实体瘤不仅由肿瘤细胞构成,相反恶性细胞与基质环境中的不同类型细胞相互作用,以促进肿瘤生长、转移。肿瘤基质由非恶性细胞组成,如癌症相关成纤维细胞(cancer associated fibroblasts, CAFs)、间充质细胞、先天和适应性免疫细胞、形成血管的内皮细胞和周细胞以及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)。其中 ECM 由结构蛋白(胶原蛋白和弹性蛋白)、特殊蛋白(纤维连接蛋白、纤维蛋白和弹性蛋白)以及蛋白多糖组成。此外,基质细胞为构成 ECM 的重要因素^[23]。靶向基质细胞的治疗策略可抑制细胞外基质形成,促进免疫细胞迁移、浸润,缓解肿瘤基质对药物的限制作用,改善免疫、靶向等治疗耐药性,同时作用于微血管生成过程可抑制 OV 的发生发展(浸润、转移等)等。CAFs 是 TME 中基质细胞的一个高度异质性亚群,也是卵巢肿瘤组织中的主要基质细胞类型之一,可促进癌细胞增殖、血管生成和淋巴管生成、ECM 重塑、免疫细胞募集,在肿瘤进展中起着关键作用。在富含转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)的卵巢肿瘤微环境中,激活 TGF- β 受体可在 CAFs 中诱导 Smad 信号传导,促进多功能蛋白聚糖基因(versican, VCAN)表达。VCAN 不仅可促进 CAFs 衍生,还可通过激活核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号,上调运动、侵袭相关基因 CD44、HMMR 和基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinases 9, MMP9)促进癌细胞的迁移和侵袭。CAFs 表达微纤维相关蛋白 5(microfibril associated protein 5 gene, MFAP5)与癌细胞上 α v β ₃ 整合素结合,并激活钙依赖的黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)/反应结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)/肌钙蛋白 C1(troponin C1, TNNC1)

信号通路,随后刺激 F-肌动蛋白细胞骨架的重组,增强 OV 细胞的运动性。CAFs 可表达趋化因子 C-X-C 基序趋化因子配体 11(C-X-C motif chemokine ligand 11, CXCL11),激活癌细胞表面的趋化因子 C-X-C 基序趋化因子受体 3(C-X-C motif chemokine receptor 3, CXCR3)促进癌细胞生长和迁移^[24-25]。内皮细胞是肿瘤脉管系统的基本组成部分,与肿瘤的生长、转移和对化疗的反应密切相关。内皮细胞表达血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)促进血管内皮细胞的增殖和血管形成,VEGFC 和 VEGFD 促进淋巴内皮细胞的增殖和激活及淋巴管形成。临床研究显示,VEGF 含量与 OA 患者腹水形成有关,为患者生存的独立预测因子。此外,在 3 个周期的铂类化疗后,治疗前的 VEGF 水平与糖类抗原 125(carbohydrate antigen 125, CA125)水平直接相关,表明 VEGF 可作为 OV 化疗难治性的预测指标^[26-27]。其他基质细胞如脂肪细胞、间充质细胞分别通过不同途径干预 OV 进展^[28]。Lou 等^[29]指出 OV 患者中肿瘤-基质比例与铂类化疗耐药性相关,并建议在 OV 早期初始诊断时进行评估,并制定相应的治疗策略。因此本研究选择从基质细胞评分的角度探究 OV 干预策略。

本研究首先基于基质细胞得分筛选 DEGs 并进行富集分析。GO 生物功能富集分析显示,DEGs 主要与免疫功能、细胞基质组成、微血管生成等过程相关。KEGG 通路富集分析显示,DEGs 主要与信号分子和相互作用、免疫系统、运输和分解代谢等功能相关。研究表明,白细胞介素(interleukin, IL, 如 IL-1、IL-6、IL-8)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等由肿瘤细胞产生,并由肿瘤微环境中的免疫细胞激活^[30-31]。先天性免疫应答的激活依赖于巨噬细胞和树突状细胞通过分泌趋化因子如 IL-8 和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant proteins-1, MCP-1),并诱导中性粒细胞、淋巴细胞和自然杀伤细胞的募集,产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)、细胞因子、趋化因子和生长因子。细胞因子与肿瘤细胞表面 Toll 样受体(toll-like receptors, TLRs)的相互作用诱导经由 NF- κ B 及信号转导-转录激活因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)等促炎途径的活化^[32]。MCP-1 和集落刺激因子 1(colony-stimulating factor 1, CSF-1)等介导肿瘤相

关巨噬细胞 TAMs 向肿瘤微环境中的浸润, TAMs 的极性经由与 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、TNF- α 和 TLR 介导的与内毒素的相互作用而转化为 M1 表型, IL-4/IL-13、IL-10 和 TGF- β 的刺激转化为 M2 表型^[33]。M2 巨噬细胞释放免疫抑制细胞因子 (IL-10、TGF- β)、程序性死亡配体-1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1) 的高表达和免疫抑制分子 B7-H4 分泌抑制适应性免疫应答, 使细胞毒性 T 细胞反应失活, 与 OA 肿瘤分期、进展密切相关^[34-35]。研究显示全球 15.5% 的 OA 病例为人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 阳性^[36]。研究表明 HPV E6/E7 在卵巢肿瘤中表达, HR-HPV 感染导致 OA 中 p53 表达降低和 p16 表达增加^[37], 另外 HPV 介导的肿瘤抑制基因启动子如细胞黏附分子 1 (cell adhesion molecule 1, CADM1)、髓鞘和淋巴蛋白 (myelin and lymphocyte protein, MAL)、配对盒 1 (paired box-1, PAX1)、腺苷酸环化酶激活多肽 1 (adenylate cyclase activating polypeptide 1, ADCYAP1)、分泌性缺失相关蛋白 (secreted frizzled related protein, SFRP) 和腺瘤性息肉样腺癌大肠 (adenomatous polyposis coli carcinoma, APC) 高甲基化, 对 OV 的发展具有重要意义^[38-39]。综上, 筛选所得 DEGs 与 OV 发生发展机制相适应。

进一步采用 PPI、MCODE 和 cytoHubba 拓扑筛选影响基质细胞丰度的关键基因。FN1 是许多细胞外基质的核心组分, 通过与细胞表面整合素受体的直接相互作用调节各种细胞活动, 经由多种贴壁细胞合成并编制成纤维网。FN1 为 OV 重要预后因子^[40-41], 与肿瘤细胞系的迁移和浸润有关, FN1 高表达可阻止治疗药物引起的 OV 细胞凋亡, 临床数据证实 FN1 为 OV 进展良好的标志物并且可能是 OV 进展核心^[42]。此外, 难治性晚期 OV 的临床特征表明, 腹膜充当转移性肿瘤的锚定点, 使持续性 OV 细胞得以存活, OV 相关间皮细胞 (oxygenated alkynyl carbon materials, OACMs) 之间相互作用激活 FN1/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路诱导 OV 细胞产生铂耐药性, 同时 OV 细胞和 OACMs 之间的信号传导促进 OV 细胞转移和免疫逃逸, OACMs 为 OV 腹膜扩散潜在的新治疗靶点^[43-44]。LUM 是 ECM 的重要组成部分, 能与层黏连蛋白结合, 可诱导蛋白多糖组成变化, 调节细胞周期, 其异常表达与肿瘤的转移和侵袭密切相关。LUM 在多种耐药 OV 细胞系中过度表达^[45],

且与拓扑替康呈剂量和时间相关性增加, 此外与 COL3A1 的共表达表明 LUM 在胶原纤维形成中的重要性^[46-47]。COL5A1 为胶原蛋白家族蛋白, 参与细胞外基质的形成, 也有报道 COL5A1 为缺氧相关基因。V 型胶原蛋白是原纤维形成胶原蛋白的成分之一, 通过与 I 型或 II 型胶原蛋白形成共聚物来调节异型胶原原纤维的长度和丰度, 在细胞外基质组织中发挥关键作用^[48]。COL5A1 在 OV 细胞和组织中表达较高, 敲低可抑制 OV 细胞的增殖和迁移, 且在紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 耐药 OV 细胞中过表达。生存分析显示 COL5A1 表达升高与较差的生存结果相关, 并与 OV 患者的肿瘤分期相关。COL5A1 是与巨噬细胞浸润和 M2 极化相关的关键基因, 并且与 OV 中浸润免疫细胞的比例相关, 表明 COL5A1 可能是 OV 中的免疫治疗靶点^[49]。COL3A1 是一种与化疗耐药相关的非纤维状胶原蛋白, 为 OV 细胞系中表达最丰富的胶原蛋白, 在紫杉醇、托泊替康和顺铂耐药细胞系中高表达^[50], 与 OV 患者总生存期缩短有关^[51], miR-let-7b/COL3A1 调控途径在 OV 侵袭性和化疗耐药性中发挥作用^[52]。COL5A2 属于胶原蛋白家族, 在 OV 组织中主要由 CAFs 表达, 与正常卵巢组织相比, COL5A2 在 OV 组织中高表达, 且当 COL5A2 高表达时, OV 患者的预后较差。COL5A2 通过与 OV 细胞表面的 ITGAV 结合, 激活 OV 细胞的 FAK/磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)/Akt 信号通路, 促进 OV 的增殖、迁移和侵袭^[53]。小分子亮氨酸重复蛋白聚糖 (small leucine-rich proteoglycans, SLRPs) 家族广泛存在于 ECM 中, 参与基质形成, 调节癌细胞增殖、血管生成和迁移。DCN 为 I 型 SLRPs 之一, 与多种细胞因子或膜受体相互作用, 参与胶原纤维形成的调节^[54]。研究发现 DCN 可以在体外抑制多种肿瘤细胞的增殖和迁移。OV 组织中 DCN 的表达显著高于正常组织, 但晚期和早期 OV 之间的差异不显著, DCN 是肿瘤发生的致癌基因^[55]。COL1A1 也为胶原家族的蛋白, 主要参与细胞外基质结构的组成, 与肿瘤侵袭和进展、化疗耐药相关^[56-57]。FBN1 是构成细胞外基质微纤维的主要成分, 其主要作用是保持结缔组织的形态完整和功能正常。FBN1 表达失调, 经由极光激酶 A (aurora kinase A, Aurora-A)、乳腺癌易感基因 2 (breast cancer susceptibility gene 2, BRCA2) 信号转导, 与肿瘤细胞的侵袭和

转移相关^[58]。此外 FBN1 与较差的总生存率以及高级别浆液性 OV 的晚期阶段有关^[59]。COL1A2 也为胶原家族的蛋白，相较于正常组织表达显著增加，且与 OV 的不良预后相关^[60]。COL11A1 也为胶原家族的蛋白，敲低会导致细胞迁移、侵袭和肿瘤进展减少，靶向胶原蛋白可能是预防 OV 进展和转移的有效方法^[61]。此外亦有研究指出 COL11A1 为 OV 复发和不良的临床事件预测因子^[62]。关键基因主要与 ECM 形成相关，切片染色研究显示，与原发性肿瘤相比，转移性肿瘤显示出成纤维细胞反应，其特征是肿瘤病灶周围 ECM 密集转移组织中纤维性胶原明显增加^[63]，关键基因表达均与 OV 组织病理密切相关。本研究对关键基因临床价值进一步分析显示，关键基因表达与患者 PFS/OS/PPS 密切相关，与正常群体存在显著差异。同时关键基因无论是个体还是综合表达均与免疫细胞浸润显著相关。综上，关键基因的筛选结果不仅符合网络拓扑学，也具有充分的临床价值。

肿瘤微环境是中医肿瘤辨证论治的物质基础，与肿瘤细胞的免疫逃逸密切相关。肿瘤微环境的改变促进肿瘤细胞的诱导分化，中医肿瘤辨证论治的实质就是干预肿瘤微环境^[64]。故本研究最后基于关键基因预测得南木香、千层塔等靶向中药，同时基于“癌毒”理论的 OV 病机筛选得川芎、甘草等靶向中药。OV 病因病机为“肝肾两虚，肝肾两虚，湿浊瘀毒”，临床治疗上，当以抗癌解毒为核心，祛瘀消癥为关键，利湿化浊为要点，培补肝肾为根本。筛选所得南木香、千层塔、菴蔚子、肿节风等中药有解毒、破瘀、散结等中药作用，杜仲、鹿角等中药有温肾阳、舒肝、强筋骨等作用，均属于上述治则。现代药理学研究显示，守正创新组方中药味有抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、降糖、调血脂、补肾、补血、保肝等多种活性^[65-73]，研究预测所得药味从中医理论和现代医学角度均具有较高的可信度。南木香中木香烯内酯可通过时间-浓度相关性抑制卵巢癌细胞的生长增殖、诱导凋亡和阻滞细胞周期在 G₂/M 期，抑制腺苷活化蛋白激酶（adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK）/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin, mTOR）信号通路进而抑制 OV 细胞的自噬^[74]；千层塔中 serratezomines A、B 对多种肿瘤细胞有较好的细胞毒活性^[75]；菴蔚子中 phlomisetraol B 有较好的抗肿瘤细胞迁移及抗增殖

作用^[76]；猫爪草为治疗卵巢癌常用药物，其总皂苷、多糖、脂肪酸等多种肿瘤细胞均有不同程度的抑制及杀伤作用^[68]；杜仲中黄酮、三萜及总多糖成分可将肿瘤细胞阻滞在 S 期，阻止其进一步的增殖并作用于线粒体诱导其凋亡^[77-78]；肿节风中萜类化合物、香豆素和酚酸类等成分可抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡、抑制细胞端粒酶活性、抑制细胞侵袭和迁移，在临床中肿节风治疗各种恶性肿瘤均有一定的疗效，主要表现在改善临床症状、减轻不良反应以及延长生存期等，可以起到增效、增敏作用，且临床用药较安全^[79]；马红丸为临床常用抗肿瘤复方制剂，其中包含红娘子，其蛋白对多种肿瘤细胞均有抑制及诱导凋亡作用^[80]。林丽珠教授以温阳法治疗卵巢癌中多次运用预知子、猫爪草等中药，患者病情控制良好，预知子中常春藤皂苷元等成分对不同肿瘤细胞均有抑制作用^[72,81]。菴菜中植物环蛋白对 16 种肿瘤细胞均有细胞毒性作用，对肿瘤细胞的细胞毒活性比正常细胞敏感^[82]，临床应用中大剂量使用菴菜紫花地丁解毒^[83]，用鹿角作为善补类动物药，以扶正治癌为理论指导，从肝肾论治^[84]。守正部分药味川芎、甘草、半夏、黄芩、当归、熟地黄、桔梗、大黄、茯苓等在不仅前述创新部分中药组方中均有提及，也在临床用药中均为高频次使用药味^[84-88]。

采用复方网络药理学分析守正创新中药方作用机制，组方与 DEGs 有交集靶蛋白 34 个，占 DEGs 16.8%，关键基因均包含在内。GO 富集分析显示，交集靶蛋白主要参与调节白细胞分化、血管生成、胶原蛋白 XI 型三聚体、细胞外基质、基底膜、血小板衍生生长因子结合、趋化因子活性等生物功能，与 OV 关键基因和进展中组织病理学变化相对应。KEGG 富集分析显示，交集靶蛋白参与调节糖尿病并发症中的 AGE-RAGE、白细胞跨内皮迁移、血管平滑肌收缩、癌症蛋白多糖、蛋白质的消化和吸收、松弛素、ECM 与受体的相互作用等通路。研究表明，AGE-RAGE 在肿瘤转移、化疗耐药和癌症复发中可促进癌症进展和患者死亡，在肿瘤细胞代谢和侵袭方面，糖酵解生成的 AGEs 和 AGE 活化的 RAGE 共同引发异常的分子途径，致使肿瘤恶性侵袭。并且 AGEs 作为代谢突变的副产物通过改变代谢组、表观基因组和微生物组，胁迫细胞间、细胞内和细胞外的微环境，最终导致癌症发生。AGE-RAGE 协同可诱导三磷酸腺苷（adenosine triphosphate, ATP）

激增获取剩余能量、自噬以获得细胞凋亡逃逸和肿瘤耐药、胰岛素样生长因子-1 表达导致慢性炎症和血管生成、高迁移率族蛋白-B1 表达以获得免疫耐受、S100 蛋白表达以获得肿瘤细胞转移、p53 蛋白降解以降低肿瘤抑制作用等, AGEs 在乳腺癌、前列腺癌、结肠癌和胰腺癌的侵袭性中被明确报道, 癌症患者的 AGEs 水平高于健康对照组, 晚期 AGEs 水平高于局限性阶段^[89-91], 因此 AGE/AGEs 为癌症治疗和药物研发中重要通路。其余通路均与免疫细胞浸润、细胞外基质调节等相关, 均与 OV 发生发展过程密切相关。

4 结论

OV 作为“妇癌之王”, 治疗预后不佳, 与发现时间晚、免疫治疗耐药、化学/靶向治疗耐药、激素治疗耐药等相关, 而目前卵巢癌治疗多关注于癌细胞和免疫细胞, 忽略了肿瘤微环境中的基质细胞和基质。基质细胞分泌多种影响血管生成、增殖、侵袭和转移的因子, 其中 CAFs 是 ECM 的主要来源。基质作为肿瘤微环境的重要成分, 其特有的生物学特征(如组织缺氧和酸中毒、间质高压形成, 大量生长因子和蛋白水解酶的产生及免疫炎症反应等)在肿瘤的发生、发展、转移和治疗耐药中具有重要影响, 在癌症治疗策略中应当包含靶向基质的策略。现有的中药新药研发多经由古代经典名方、临床协定方以及院内制剂转化而来, 却忽略了生物信息学等技术在中药新方早期发现中的应用。现有文献中有报道的预测组方仅从“靶点-中药”角度出发, 缺少了中医药传统理论的应用。

因此本研究基于基质细胞筛选关键基因, 充分发挥中药复方“多成分、多靶点、多机制”协同特点, 同时结合传统医学对于肿瘤微环境及 OV 的理解筛选基于中医理论药味, 构建守正创新的 OV 治疗中药组方。然而本研究亦有不足之处, 仅从现有研究进行归纳总结, 尚未就预测组方进一步开展体内外实验验证。本研究可为基于 OV 微环境的中药复方药物开发提供组方思路, 也可为靶向肿瘤微环境中其他的成分或其他癌症类别药物开发提供参考借鉴。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 国家癌症中心, 国家肿瘤质控中心卵巢癌质控专家委员会. 中国卵巢癌规范诊疗质量控制指标 (2022 版) [J]. 中华肿瘤杂志, 2022, 44(7): 609-614.
[2] 李璿, 温灏, 刘淑娟, 等. 2023 年中国卵巢癌诊疗现状

白皮书 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2023, 39(12): 1225-1232.
[3] Giannini A, di Dio C, di Donato V, et al. PARP inhibitors in newly diagnosed and recurrent ovarian cancer [J]. *Am J Clin Oncol*, 2023, 46(9): 414-419.
[4] 袁佳璐, 蒋葵. 卵巢上皮性癌 PARP 抑制剂耐药的研究进展 [J]. 中华妇产科杂志, 2019, 54(8): 573-576.
[5] 彭译漫, 罗香梦, 陈婧瑶. 肿瘤微环境代谢的研究进展及免疫治疗新策略 [J]. 四川大学学报: 医学版, 2023, 54(3): 505-509.
[6] Valkenburg K C, de Groot A E, Pienta K J. Targeting the tumour stroma to improve cancer therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(6): 366-381.
[7] Sharma R, Kaur G, Bansal P, et al. Bioinformatics paradigms in drug discovery and drug development [J]. *Curr Top Med Chem*, 2023, 23(7): 579-588.
[8] 张夏玲, 程海波, 李柳. 基于癌毒病机理论辨治卵巢癌 [J]. 北京中医药大学学报, 2023, 46(5): 736-740.
[9] Posta M, Györfy B. Analysis of a large cohort of pancreatic cancer transcriptomic profiles to reveal the strongest prognostic factors [J]. *Clin Transl Sci*, 2023, 16(8): 1479-1491.
[10] Liu C J, Hu F F, Xie G Y, et al. GSCA: An integrated platform for gene set cancer analysis at genomic, pharmacogenomic and immunogenomic levels [J]. *Brief Bioinform*, 2023, 24(1): bbac558.
[11] Tang Z F, Kang B X, Li C W, et al. GEPIA2: An enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W556-W560.
[12] Wu T Z, Hu E Q, Xu S B, et al. clusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data [J]. *Innov*, 2021, 2(3): 100141.
[13] Yu G C, Wang L G, Yan G R, et al. DOSE: An R/Bioconductor package for disease ontology semantic and enrichment analysis [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(4): 608-609.
[14] Bader G D, Hogue C W V. An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks [J]. *BMC Bioinformatics*, 2003, 4: 2.
[15] Chin C H, Chen S H, Wu H H, et al. cytoHubba: Identifying hub objects and sub-networks from complex interactome [J]. *BMC Syst Biol*, 2014, 8(Suppl 4): S11.
[16] Hänzelmann S, Castelo R, Guinney J. GSEA: Gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data [J]. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 7.
[17] Li Q Y, Birnbak N J, Györfy B, et al. Jset: Selecting the optimal microarray probe set to represent a gene [J]. *BMC Bioinformatics*, 2011, 12: 474.
[18] 刘洋, 曹赛雅, 冯月娇, 等. 应用机器学习和神经网络

- 模型识别结直肠癌“炎癌转化”过程的关键基因及防治中药预测 [J]. 中草药, 2023, 54(19): 6386-6399.
- [19] Kong X, Liu C, Zhang Z, *et al.* BATMAN-TCM 2.0: An enhanced integrative database for known and predicted interactions between traditional Chinese medicine ingredients and target proteins [J]. *Nuc Aci Res*, 2024, 52(D1): D1110-D1120.
- [20] 赵海云, 吴小华. 免疫治疗在卵巢癌中的应用研究进展 [J]. 中国癌症杂志, 2020, 30(7): 538-545.
- [21] Morand S, Devanaboyina M, Staats H, *et al.* Ovarian cancer immunotherapy and personalized medicine [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6532.
- [22] Yang C, Xia B R, Zhang Z C, *et al.* Immunotherapy for ovarian cancer: Adjuvant, combination, and neoadjuvant [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 577869.
- [23] da Silva A C, Jammal M P, Crispim P C A, *et al.* The role of stroma in ovarian cancer [J]. *Immunol Invest*, 2020, 49(4): 406-424.
- [24] Lau T S, Chung T K H, Cheung T H, *et al.* Cancer cell-derived lymphotoxin mediates reciprocal tumour-stromal interactions in human ovarian cancer by inducing CXCL11 in fibroblasts [J]. *J Pathol*, 2014, 232(1): 43-56.
- [25] Rakina M, Kazakova A, Villert A, *et al.* Spheroid formation and peritoneal metastasis in ovarian cancer: The role of stromal and immune components [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11): 6215.
- [26] Yeung T L, Leung C S, Li F H, *et al.* Targeting stromal-cancer cell crosstalk networks in ovarian cancer treatment [J]. *Biomolecules*, 2016, 6(1): 3.
- [27] Masoumi-Moghaddam S, Amini A, Wei A Q, *et al.* Vascular endothelial growth factor expression correlates with serum CA125 and represents a useful tool in prediction of refractoriness to platinum-based chemotherapy and ascites formation in epithelial ovarian cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 28491-28501.
- [28] Kato S, Abarzua-Catalan L, Trigo C, *et al.* Leptin stimulates migration and invasion and maintains cancer stem-like properties in ovarian cancer cells: An explanation for poor outcomes in obese women [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(25): 21100-21119.
- [29] Lou E, Vogel R I, Hoostal S, *et al.* Tumor-stroma proportion as a predictive biomarker of resistance to platinum-based chemotherapy in patients with ovarian cancer [J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(8): 1222-1224.
- [30] Siamakpour-Reihani S, Owzar K, Jiang C, *et al.* Prognostic significance of differential expression of angiogenic genes in women with high-grade serous ovarian carcinoma [J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 139(1): 23-29.
- [31] Clendenen T V, Lundin E, Zeleniuch-Jacquotte A, *et al.* Circulating inflammation markers and risk of epithelial ovarian cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2011, 20(5): 799-810.
- [32] Thibault B, Castells M, Delord J P, *et al.* Ovarian cancer microenvironment: Implications for cancer dissemination and chemoresistance acquisition [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2014, 33(1): 17-39.
- [33] Savant S S, Sriramkumar S, O'Hagan H M. The role of inflammation and inflammatory mediators in the development, progression, metastasis, and chemoresistance of epithelial ovarian cancer [J]. *Cancers*, 2018, 10(8): 251.
- [34] De Nola R, Menga A, Castegna A, *et al.* The crowded crosstalk between cancer cells and stromal microenvironment in gynecological malignancies: Biological pathways and therapeutic implication [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(10): 2401.
- [35] Webb J R, Milne K, Kroeger D R, *et al.* PD-L1 expression is associated with tumor-infiltrating T cells and favorable prognosis in high-grade serous ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 141(2): 293-302.
- [36] Liang L, Jiang Y, Chen J S, *et al.* B7-H4 expression in ovarian serous carcinoma: A study of 306 cases [J]. *Hum Pathol*, 2016, 57: 1-6.
- [37] Svahn M F, Faber M T, Christensen J, *et al.* Prevalence of human papillomavirus in epithelial ovarian cancer tissue. A meta-analysis of observational studies [J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2014, 93(1): 6-19.
- [38] Roos P, Orlando P A, Fagerstrom R M, *et al.* In North America, some ovarian cancers express the oncogenes of preventable human papillomavirus HPV-18 [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8645.
- [39] Paradowska E, Jabłońska A, Studzińska M, *et al.* Detection and genotyping of CMV and HPV in tumors and fallopian tubes from epithelial ovarian cancer patients [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 19935.
- [40] Al-Shabanah O A, Hafez M M, Hassan Z K, *et al.* Methylation of SFRPs and APC genes in ovarian cancer infected with high risk human papillomavirus [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(6): 2719-2725.
- [41] Franke F E, von Georgi R, Zygmunt M, *et al.* Association between fibronectin expression and prognosis in ovarian carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(5b): 4261-4267.
- [42] Kujawa K A, Zembala-Nożyńska E, Cortez A J, *et al.* Fibronectin and periostin as prognostic markers in ovarian cancer [J]. *Cells*, 2020, 9(1): 149.
- [43] Bao H J, Huo Q Y, Yuan Q, *et al.* Fibronectin 1: A potential biomarker for ovarian cancer [J]. *Dis Markers*, 2021, 2021: 5561651.
- [44] Chauvin M, Meinsohn M C, Dasari S, *et al.* Cancer-associated mesothelial cells are regulated by the anti-

- Müllerian hormone axis [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(7): 112730.
- [45] Yoshihara M, Kajiyama H, Yokoi A, *et al.* Ovarian cancer-associated mesothelial cells induce acquired platinum-resistance in peritoneal metastasis via the FN1/Akt signaling pathway [J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(8): 2268-2280.
- [46] Januchowski R, Zawierucha P, Ruciński M, *et al.* Microarray-based detection and expression analysis of extracellular matrix proteins in drug-resistant ovarian cancer cell lines [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(5): 1981-1990.
- [47] Klejewski A, Świerczewska M, Zaorska K, *et al.* New and old genes associated with topotecan resistance development in ovarian cancer cell lines [J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(4): 1625-1636.
- [48] Klejewski A, Sterzyńska K, Wojtowicz K, *et al.* The significance of lumican expression in ovarian cancer drug-resistant cell lines [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(43): 74466-74478.
- [49] Wenstrup R J, Florer J B, Brunskill E W, *et al.* Type V collagen controls the initiation of collagen fibril assembly [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(51): 53331-53337.
- [50] Zhang J G, Zhang J H, Wang F C, *et al.* Overexpressed COL5A1 is correlated with tumor progression, paclitaxel resistance, and tumor-infiltrating immune cells in ovarian cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(10): 6907-6919.
- [51] Januchowski R, Świerczewska M, Sterzyńska K, *et al.* Increased expression of several collagen genes is associated with drug resistance in ovarian cancer cell lines [J]. *J Cancer*, 2016, 7(10): 1295-1310.
- [52] Engqvist H, Parris T Z, Kovács A, *et al.* Immunohistochemical validation of COL3A1, GPR158 and PITHD1 as prognostic biomarkers in early-stage ovarian carcinomas [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 928.
- [53] You K L, Liu Y J, Chen L, *et al.* *Radix Ranunculus Temate* saponins sensitizes ovarian cancer to taxol via upregulation of miR-let-7b [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(5): 315.
- [54] Halari C D, Zheng M, Lala P K. Roles of two small leucine-rich proteoglycans decorin and biglycan in pregnancy and pregnancy-associated diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10584.
- [55] Deng L, Wang D D, Chen S Z, *et al.* Epiphycan predicts poor outcomes and promotes metastasis in ovarian cancer [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 653782.
- [56] Wang M Y, Wang J J, Liu J L, *et al.* Systematic prediction of key genes for ovarian cancer by co-expression network analysis [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(11): 6298-6307.
- [57] Leask A. A centralized communication network: Recent insights into the role of the cancer associated fibroblast in the development of drug resistance in tumors [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2020, 101: 111-114.
- [58] Yang F, Zhao Z Y, Cai S Y, *et al.* Detailed molecular mechanism and potential drugs for COL1A1 in carboplatin-resistant ovarian cancer [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 576565.
- [59] Wang Z L, Liu Y, Lu L L, *et al.* Fibrillin-1, induced by Aurora-a but inhibited by BRCA2, promotes ovarian cancer metastasis [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(9): 6670-6683.
- [60] Millstein J, Budden T, Goode E L, *et al.* Prognostic gene expression signature for high-grade serous ovarian cancer [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(9): 1240-1250.
- [61] Lai H L, Zhao X J, Qin Y, *et al.* FAK-ERK activation in cell/matrix adhesion induced by the loss of apolipoprotein E stimulates the malignant progression of ovarian cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 32.
- [62] Cheon D J, Tong Y G, Sim M S, *et al.* A collagen-remodeling gene signature regulated by TGF- β signaling is associated with metastasis and poor survival in serous ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(3): 711-723.
- [63] Wu Y H, Chang T H, Huang Y F, *et al.* COL11A1 promotes tumor progression and predicts poor clinical outcome in ovarian cancer [J]. *Oncogene*, 2014, 33(26): 3432-3440.
- [64] 马萌. 肿瘤微环境及其中医证本质: 中医现代化路径之探索 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(6): 2255-2261.
- [65] 郑加梅, 尚明越, 王嘉乐, 等. 木香的化学成分、药理作用、临床应用研究进展及质量标志物预测 [J]. *中草药*, 2022, 53(13): 4198-4213.
- [66] 赵刚, 胡光明, 吴平华, 等. 药用蕨类植物蛇足石杉的研究进展 [J]. *上饶师范学院学报*, 2018, 38(6): 67-73.
- [67] 舒朋华, 罗跃辉, 刘婉蓉, 等. 莞蕨子化学成分与药理作用的研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(7): 39-43.
- [68] 杨金伟, 张莹. 猫爪草提取部位及有效成分抗肿瘤作用的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44(2): 446-451.
- [69] 张敏, 梁凤妮, 孙延文, 等. 杜仲化学成分、药理作用和临床应用研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(14): 4740-4761.
- [70] 韩倩, 武晓林. 肿节风化学成分和药理作用研究进展 [J]. *吉林农业*, 2017(8): 63-64.
- [71] 姜蓉, 李正龙, 王淑敏. 红娘子蛋白提取工艺优化及其对肝癌细胞 Bel-7402 的影响 [J/OL]. *特产研究* [2024-12-04]. <https://doi.org/10.16720/j.cnki.tcyj.2023.208>.
- [72] 周向文, 王艳, 王娜. 预知子的化学成分和药理作用研究进展 [J]. *中南药学*, 2021, 19(4): 691-696.
- [73] 李娜, 胡亚楠, 王晓雪, 等. 鹿角胶化学成分、药理作用及质量控制研究进展 [J]. *中药材*, 2021, 44(7): 1777-1783.

- [74] 梁宵. 木香炔内酯通过 AMPK/mTOR 信号通路抑制 STX17-SNAP29-VAMP8 复合物的形成增加卵巢癌细胞顺铂敏感性的机制研究 [D]. 南充: 川北医学院, 2023.
- [75] Morita H, Arisaka M, Yoshida N, *et al.* Serratezomines A: C, new alkaloids from *Lycopodium serratum* var. *serratum* [J]. *J Org Chem*, 2000, 65(19): 6241-6245.
- [76] Ye M, Xiong J, Zhu J J, *et al.* Leonurusoleanolides E-J, minor spirocyclic triterpenoids from *Leonurus japonicus* fruits [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(1): 178-182.
- [77] 闫芝茜. 杜仲叶多糖提取、结构表征及抗肿瘤活性研究 [D]. 天津: 天津科技大学, 2022.
- [78] 钱文丹, 谭艾娟, 吕世明, 等. 杜仲中五环三萜类及其抗肿瘤活性 [J]. *中成药*, 2019, 41(5): 1059-1065.
- [79] 周冰霞, 华桦, 刘梅. 肿节风抗肿瘤临床疗效及其作用机制研究进展 [J]. *上海中医药杂志*, 2023, 57(11): 85-89.
- [80] 李正龙. 米炒红娘子炮制规范及抗肿瘤活性研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2023.
- [81] 李奕洁. 温阳法辨治恶性肿瘤的思路探讨与典型案例分析 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [82] 胡玉丽, 许利嘉, 闫瞰, 等. 堇菜属植物中植物环蛋白的药理活性研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2013, 28(6): 1006-1011.
- [83] 王群, 郑婧. 国医大师张志远临床应用蒲公英、紫花地丁经验总结 [J]. *中国民间疗法*, 2018, 26(12): 8-9.
- [84] 杨美清. 基于数据挖掘总结田建辉治疗妇科癌的用药规律 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2019.
- [85] 玄海阳. 基于数据挖掘探讨李秀荣教授治疗卵巢癌的经验 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2022.
- [86] 陈丽, 郑玉玲. 郑玉玲教授治疗卵巢癌用药规律分析 [J]. *现代中医药*, 2022, 42(6): 73-81.
- [87] 李丽玲. 黄金昶教授中医治疗卵巢癌的用药规律及经验总结 [D]. 北京中医药大学, 2022.
- [88] 梁海月. 国医大师张磊治疗癌病的临证经验及用药规律研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2023.
- [89] Palanissami G, Paul S F D. AGEs and RAGE: Metabolic and molecular signatures of the glycation-inflammation axis in malignant or metastatic cancers [J]. *Explor Target Antitumor Ther*, 2023, 4(5): 812-849.
- [90] Faruqi T, Khan M S, Akhter Y, *et al.* RAGE inhibitors for targeted therapy of cancer: A comprehensive review [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 24(1): 266.
- [91] Fan A, Gao M, Tang X, *et al.* HMGB1/RAGE axis in tumor development: Unraveling its significance [J]. *Front Oncol*, 2024, 14: 1336191.

[责任编辑 潘明佳]