

中医药信息学

GEO 基因芯片结合网络药理学和分子对接技术探讨人参-茯苓-白术配伍治疗鼻咽癌作用机制及验证

王斐¹, 朱镇华²

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007

摘要: 目的 基于GEO基因芯片数据库、网络药理学及分子对接技术, 从分子水平探讨人参-茯苓-白术配伍治疗鼻咽癌的作用机制。方法 在GEO数据库检索、下载鼻咽癌差异表达基因。通过TCMSP数据库检索人参、白术、茯苓化学成分及作用靶点。利用STRING平台及R语言、Perl语言软件筛选出交集靶点并进行蛋白相互作用分析、GO和KEGG通路富集分析, 利用Cytoscape3.8.2构建靶点-通路网络, 将人参-茯苓-白术配伍有效成分与核心靶点基因进行分子对接验证。利用CCK-8法检测并验证有效化合物对鼻咽癌细胞增殖的影响, Western blot验证其对靶点蛋白表达水平的影响。结果 从GPL6480数据集获得2 078个鼻咽癌的差异表达基因, 共筛选出44种有效化学成分, 21个交集靶点。核心靶点为JUN、IL1B、PLAU、STAT1、PTGS2, 主要通过活性氧及一氧化氮生物合成过程、类固醇结合等生物过程, 肿瘤、代谢、免疫、炎症等通路发挥作用; 分子对接显示, 花生四烯酸-PTGS2、苏齐内酯-PTGS2、豆甾醇-PLAU、β-谷甾醇-JUN对接效果好。CCK-8实验结果显示, 不同浓度花生四烯酸、苏齐内酯、豆甾醇、β-谷甾醇均可抑制鼻咽癌5-8F细胞增殖; Western blot结果显示, 以上有效成分均可使对应的靶点蛋白表达下降。结论 人参-茯苓-白术配伍通过多成分、多靶点、多通路防治鼻咽癌, 可为后续研究提供方向。

关键词: 鼻咽癌; 人参-茯苓-白术配伍; 参苓白术散; 网络药理学

中图分类号: R283.5; R273.96 文献标识码: A 文章编号: 1005-5304(2023)01-0024-08

DOI: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202205359

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Discussion on Mechanism and Verification of Ginseng Radix et Rhizoma-Poria-Atractylodis Macrocephalae Rhizoma in the Treatment of Nasopharyngeal Carcinoma by GEO Gene Microarray Combined with Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

WANG Fei¹, ZHU Zhenhua²

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism of action of Ginseng Radix et Rhizoma-Poria-Atractylodis Macrocephalae Rhizoma in the treatment of nasopharyngeal carcinoma at the molecular level based on GEO gene microarray database, network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** Differentially expressed genes of nasopharyngeal carcinoma were retrieved and downloaded from the GEO database. The chemical composition and targets of Ginseng Radix et Rhizoma, Pori and Atractylodis Macrocephalae Rhizoma were retrieved from the TCMSP database. Bioinformatics tools such as STRING platform, R language and Perl language were applied to screen cross-targets and perform protein-protein interaction analysis, and GO and KEGG pathway

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81373699、81973914); 湖南省自然科学基金(2020JJ4486); 湖南省卫健委科研计划(20200979); 2020年度创新型省份建设专项抗击新冠肺炎疫情专题第二批项目(2020SK3037); 湖南省研究生科研创新项目(CX20190582); 湖南省区域中医诊疗中心项目(2018年); 中医药防治眼耳鼻喉疾病湖南省重点实验室开放基金(2018YZD09)

通讯作者: 朱镇华, E-mail: zhenhua787@163.com

enrichment analysis. The targeting-pathway network was constructed using Cytoscape 3.8.2 and molecular docking was performed to validate the active components and core target genes before and after dosing drug acquisition. The effect of active chemical components of Ginseng Radix et Rhizoma-Poria-Atractylodis Macrocephalae Rhizoma on the proliferation of nasopharyngeal carcinoma cells was examined by CCK-8 method, and the effect of the active components of the pairwise drug on the expression level of target proteins was verified by Western blot.

Results There were 2 078 differentially expressed genes in nasopharyngeal carcinoma obtained from the GPL6480 dataset, and a total of 44 active chemical components and 21 cross-targets were screened. The core targets were JUN, IL1B, PLAU, STAT1 and PTGS2, which mainly acted through reactive oxygen species biology and nitric oxide biological processes, steroid binding and other biological processes such as tumor, metabolic, immune and inflammatory pathways. The result of molecular docking showed that arachidonic acid-PTGS2, sucilactone-PTGS2, stigmasterol-PLAU and β -sitosterol-JUN docked well. CCK-8 revealed that different concentrations of arachidonic acid esters, sucilactone, stigmasterol and β -sitosterol inhibited the proliferation of nasopharyngeal carcinoma 5-8F cells. Western blot results showed that all of the above active ingredients reduced the expression of the corresponding target proteins. **Conclusion** The combination of Ginseng Radix et Rhizoma-Poria-Atractylodis Macrocephalae Rhizoma can prevent and treat nasopharyngeal carcinoma through multi-component, multi-target and multi-channel, which can provide direction for follow-up research.

Keywords: nasopharyngeal carcinoma; Ginseng Radix et Rhizoma-Poria-Atractylodis Macrocephalae Rhizoma; Shenling Baizhu Powder; network pharmacology

鼻咽癌是一种头颈部恶性肿瘤，具有病情隐匿的特点，70%的患者确诊时已为晚期^[1-2]。目前针对鼻咽癌的治疗方案主要为放疗与化疗联合应用^[3]，但多存在远处转移及复发问题^[4-6]。放化疗常见唾液腺损伤、放射性皮肤损伤、耳鼻损伤等不良反应^[7]。寻找优于现阶段治疗的方案，提高鼻咽癌治疗的安全性及有效性是临床亟待解决的问题。

中医耳鼻咽喉科临床常见慢性疾病皆可追溯到脾虚的病机基础。其病机大体为肺脾气虚，无力托邪，外邪入里而为病。参苓白术散是中医耳鼻咽喉科常用方剂，为健脾祛湿的代表方之一，药理学研究表明其具有良好的免疫调节效应及抗炎作用^[8-10]。近年来，课题组在临床中发现参苓白术散对鼻咽癌防治具有较好效果，但其具体分子机制尚不明确。目前，参苓白术散防治鼻咽癌的相关研究较少。本研究利用GEO基因芯片结合网络药理学及分子对接技术对参苓白术散君药人参-茯苓-白术配伍防治鼻咽癌的分子机制进行探讨，并通过CCK-8法及Western blot实验进行验证，以此推测参苓白术散在鼻咽癌防治过程中的作用，为后续研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 鼻咽癌靶点获取

以“Nasopharyngeal carcinoma”为关键词，检索GEO数据库（<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>），获得正常人群与鼻咽癌患者的高通量测序数据集。通过R

语言软件进行分析筛选，以 $|\log_{2}FC| > 1$ 且 $P_{\text{adj}} < 0.05$ 为条件筛选差异表达基因，绘制火山图和热图。

1.2 人参-茯苓-白术配伍化学成分筛选

利用TCMSP数据库（<http://tcmsp.w.com/tcmsp.php>）分别检索人参、茯苓、白术的化学成分，以毒药物动力学（ADME）^[11]标准口服利用度（OB） $\geq 30\%$ 和类药性（DL） ≥ 0.18 为条件，对3种中药的化学成分进行筛选，得到人参-茯苓-白术配伍有效成分。

1.3 有效成分靶点获取

使用TCMSP检索人参-茯苓-白术有效成分相关靶点基因，并通过UniProt数据库（<http://www.uniprot.org/>）对靶点名称进行标准化处理。

1.4 化合物-交集靶点网络及蛋白相互作用网络构建

利用Perl语言软件获得人参-茯苓-白术有效成分靶点基因与鼻咽癌差异表达基因的交集靶点，导入Cytoscape3.8.2软件构建化合物-交集靶点网络。并将其导入STRING11.0（<https://string-db.org>），得到蛋白相互作用网络，以大于中位值为标准筛选核心作用靶点。

1.5 GO及KEGG通路富集分析

运用R语言软件ggplot2、clusterProfiler、enrichplot、org.Hs.eg.db包对交集靶点进行GO和KEGG通路富集分析，得到人参-茯苓-白术配伍作用于鼻咽癌的主要通路，并对结果进行可视化处理。

1.6 交集靶点-KEGG关系网络构建

将人参-茯苓-白术配伍作用于鼻咽癌的主要通路与

对应交集靶点文件导入Cytoscape3.8.2软件构建交集靶点-KEGG关系网络并进行分析。

1.7 分子对接验证

通过UniProt数据库搜索鼻咽癌靶点蛋白，在RCSB PDB数据库下载蛋白质晶体结构，在PubChem资源库下载中药有效成分2D结构，利用Chem3D软件进行能量最小化处理，使用Sybyl软件进行分子对接。

1.8 体外实验验证

1.8.1 细胞株

人鼻咽癌细胞5-8F（低分化，北纳创联生物技术研究院），经本实验室传代培养。

1.8.2 试剂与仪器

PLAU，武汉三鹰公司，批号17968-1-AP；环加氧酶2(COX2)，美国CST公司，批号12282T；c-JUN，CST公司，批号9165T； β -谷甾醇、苏齐内酯、豆甾醇、花生四烯酸，上海源叶生物科技有限公司，批号分别为B21972-20mg、B51017-5mg、B20314-20mg、B20540-20mg。NU-5810E型CO₂培养箱，美国Forma公司；JY-600HE电泳仪、JY-ZY5电泳槽、JY-SCZ2+转印槽，北京君意东方电泳设备有限公司；Microfuge 20R高速冷冻离心机，德国Eppendorf公司；MS105 DU电子天平，瑞士Mettler-Toledo公司；BWS-27恒温水浴箱，美国Pharmacia公司；AE2000倒置显微镜，日本Olympus公司；ELX800酶标仪，美国Bio-Tek公司；DW-HL388超低温冰箱，美国Fisher公司；SJ-CJ-2FD单面净化工作台，苏州净化设备有限公司；select涡旋振荡器，美国SBP公司。

1.8.3 CCK-8法检测细胞增殖

取对数生长期的5-8F人鼻咽癌细胞，种入96孔板（每100 μL培养液中5×10³个细胞），待细胞贴壁，每孔分别加入不同浓度的200 μL含药培养液，实验组分别使用5、10、20、40、80 μmol/L花生四烯酸、苏齐内酯、豆甾醇及 β -谷甾醇。设定空白孔（只加细胞培养液、不加5-8F细胞）用于吸光度（A值）校正。待药物作用24、36、48 h后，将现配的CCK-8溶液100 μL分别加入包括空白孔的所有孔内，继续培养2 h。实验重复3次。于酶标仪波长450 nm处检测A值，计算细胞相对增殖率[（实验组A值-空白组A值）÷（对照组A值-空白组A值）×100%]。

1.8.4 Western blot检测蛋白表达

取对数生长期5-8F人鼻咽癌细胞，接种至培养皿，待细胞贴壁，设置溶剂对照组，并加入不同浓度含药培养基（20、40 μmol/L花生四烯酸、苏齐内酯、豆甾醇及 β -谷甾醇）药物干预36 h后，提取总蛋白，参考

胡晶等^[12]方法进行蛋白定量、电泳、转膜、扫膜，并分析信号值，分别监测分子对接所对应的靶点蛋白(PTGS2、PLAU、JUN)。实验重复3次。

1.8.5 统计学方法

采用SPSS22.0统计软件进行分析。计量资料数据均服从正态分布，以 $\bar{x}\pm s$ 表示，多组间比较和单因素设计采用单因素方差分析，多重比较采用LSD法。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鼻咽癌差异表达基因

通过检索GEO数据库，确定GPL6480数据集，该芯片数据集收集了18个正常人群鼻咽组织和18个原发鼻咽癌原发组织的基因表达谱。使用R语言软件下载并分析原始数据，以 $P_{adj}<0.05$ 且 $|logFC|>1$ 为条件进行差异分析后获得2078个鼻咽癌差异表达基因，其中包含1214个下调基因和864个上调基因，利用R语言绘制火山图，见图1。选取20个上调基因及20个下调基因绘制热图，见图2。

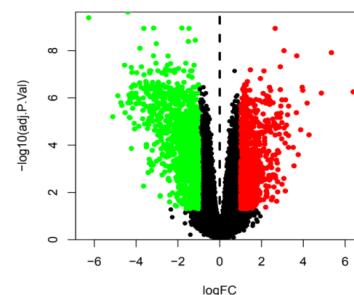


图1 鼻咽癌GPL6480数据集差异表达基因火山图

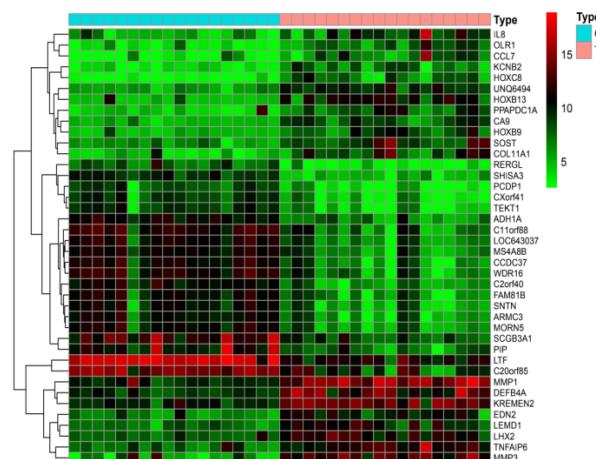


图2 鼻咽癌GPL6480数据集差异表达基因FC分析热图

2.2 人参-茯苓-白术有效成分

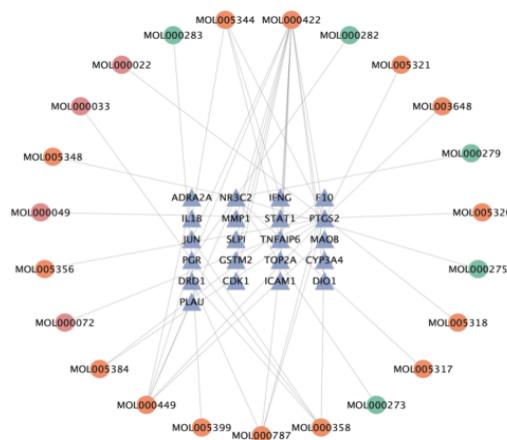
利用TCMSP平台检索人参、茯苓、白术的主要化学成分，以OB≥30%和DL≥0.18为条件筛选出有效化学成分共44种，其中人参22种、白术7种、茯苓15种，见表1。

表1 人参-茯苓-白术有效成分信息

MOL ID	化合物	OB/%	DL	药物
MOL005314	Celabenzine (塞拉苯嗪)	101.88	0.49	人参
MOL005308	Aposiopolamine (阿泊泊胺)	66.65	0.22	人参
MOL005321	Frutinone A (果他酮A)	65.90	0.34	人参
MOL003648	Inermin (山槐素)	65.83	0.54	人参
MOL000022	14-acetyl-12-senecioyl-2E,8Z,10E-atractylentriol	63.37	0.30	白术
MOL000020	12-senecioyl-2E,8E,10E-atractylentriol	62.40	0.22	白术
MOL005356	Girinimbin (肠溶菌)	61.22	0.31	人参
MOL000021	14-acetyl-12-senecioyl-2E,8E,10E-atractylentriol	60.31	0.31	白术
MOL000787	Fumarine (富马林)	59.26	0.83	人参
MOL005360	Malkangunin (马尔康古宁)	57.71	0.63	人参
MOL005384	Suchilactone (苏齐内酯)	57.52	0.56	人参
MOL000049	3β-acetoxyatractylone	54.07	0.22	白术
MOL005320	Arachidonate (花生四烯酸)	45.57	0.20	人参
MOL000300	Dehydroeburicoic acid (去氢齿孔酸)	44.17	0.83	茯苓
MOL000449	Stigmasterol (豆甾醇)	43.83	0.76	人参
MOL002879	Diop (二异辛酯)	43.59	0.39	人参
MOL000282	Ergosta-7,22E-dien-3beta-ol	43.51	0.72	茯苓
MOL000422	Kaempferol (莰非醇)	41.88	0.24	人参
MOL005318	Dianthramine (敌草胺)	40.45	0.20	人参
MOL000283	Ergosterol peroxide (过氧化麦角甾醇)	40.36	0.81	茯苓
MOL005401	Ginsenoside Rg5_qt (人参皂甙 Rg5_qt)	39.56	0.79	人参
MOL000028	α-Amyrin (α-香树脂醇)	39.51	0.76	白术
MOL005317	Deoxyharringtonine (去氧三尖杉脂碱)	39.27	0.81	人参
MOL004492	Chrysanthemaxanthin (菊黄素)	38.72	0.58	人参
MOL000275	Trametenolic acid (曲美烯酸)	38.71	0.80	茯苓
MOL000287	3beta-Hydroxy-24-methylene-8-lanostene-21-oic acid	38.70	0.81	茯苓
MOL000285	(2R)-2-[(5R,10S,13R,14R,16R,17R)-16-hydroxy-3-keto-4,4,10,13,14-pentamethyl-1,2,5,6,12,15,16,17-octahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid	38.26	0.82	茯苓
MOL000292	Poricoic acid C (茯苓酸C)	38.15	0.75	茯苓
MOL000279	Cerevisterol (脑甾醇)	37.96	0.77	茯苓
MOL000358	beta-Sitosterol (β-谷甾醇)	36.91	0.75	人参
MOL005399	Alexandrin_qt	36.91	0.75	人参
MOL000296	Hederagenin (常春藤皂苷元)	36.91	0.75	茯苓
MOL005344	Ginsenoside rh2 (人参皂苷 rh2)	36.32	0.56	人参
MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yloctan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.23	0.78	白术
MOL000072	8β-Ethoxy atracylenolide III	35.95	0.21	白术
MOL000276	7,9(11)-Dehydropachymic acid	35.11	0.81	茯苓
MOL000289	Pachymic acid (茯苓酸)	33.63	0.81	茯苓
MOL005376	Panaxadiol (人参二醇)	33.09	0.79	人参
MOL005357	Gomisin B (五味子酯乙)	31.99	0.83	人参
MOL005348	Ginsenoside-Rh4_qt (人参皂苷-Rh4_qt)	31.11	0.78	人参
MOL000280	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid	31.07	0.82	茯苓
MOL000273	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-methylhept-5-enoic acid	30.93	0.81	茯苓
MOL000290	Poricoic acid A (莨菪酸A)	30.61	0.76	茯苓
MOL000291	Poricoic acid B (莨菪酸B)	30.52	0.75	茯苓

2.3 化合物-交集靶点网络

应用Perl语言分析获得鼻咽癌差异表达基因与人参-茯苓-白术对应靶点基因的交集靶点共21个，与交集靶点相互作用的有效化合物共23个。以交集靶点与有效化合物数据构建化合物-交集靶点网络，见图3。该网络共有44个节点和50条边。人参、茯苓、白术中多个有效化合物可对应相同的靶点，而不同靶点也可对应同一有效化合物，表明人参-茯苓-白术配伍多成分、多靶点作用于鼻咽癌的特点。



注：三角形代表靶点，绿色、红色、橙色圆形分别代表
茯苓、白术、人参相应化合物

图3 人参-茯苓-白术治疗鼻咽癌化合物-交集靶点网络

2.4 交集靶点蛋白相互作用分析

将21个交集靶点导入STRING平台，设置置信度>0.150，剔除没有相互关系的靶点，得到图4A。设置置信度>0.400，提取图4A中关联更紧密的网络，得到图4B。将数据导入Cytoscape3.8.2，利用cytoNCA插件及R语言，以大于中位数为条件筛选核心基因，得到图4C，提取核心基因，生成网络，见图4D。分析得到JUN、IL1B、PLAU、STAT1、PTGS2共5个核心靶点，可认为这些靶点在网络中起重要作用。

2.5 GO 及 KEGG 通路富集分析

对交集靶点进行GO和KEGG通路富集分析。以 $P_{adj}<0.05$ 为标准分别确定前15个生物过程(BP)、分子功能(CC)、细胞成分(MF)的GO条目，见图5。可以看出，相关性最大的生物过程有活性氧生物合成过程、一氧化氮生物合成过程、一氧化氮代谢过程、活性氮类代谢过程等，分子功能有类固醇结合、丝氨酸型内肽酶活性、丝氨酸型肽酶活性、丝氨酸水解酶活性等，细胞成分有细胞器外膜等。交集靶点KEGG通路富集分析见图6，主要涉及肿瘤、代谢、免疫、炎症等方面信号转导。

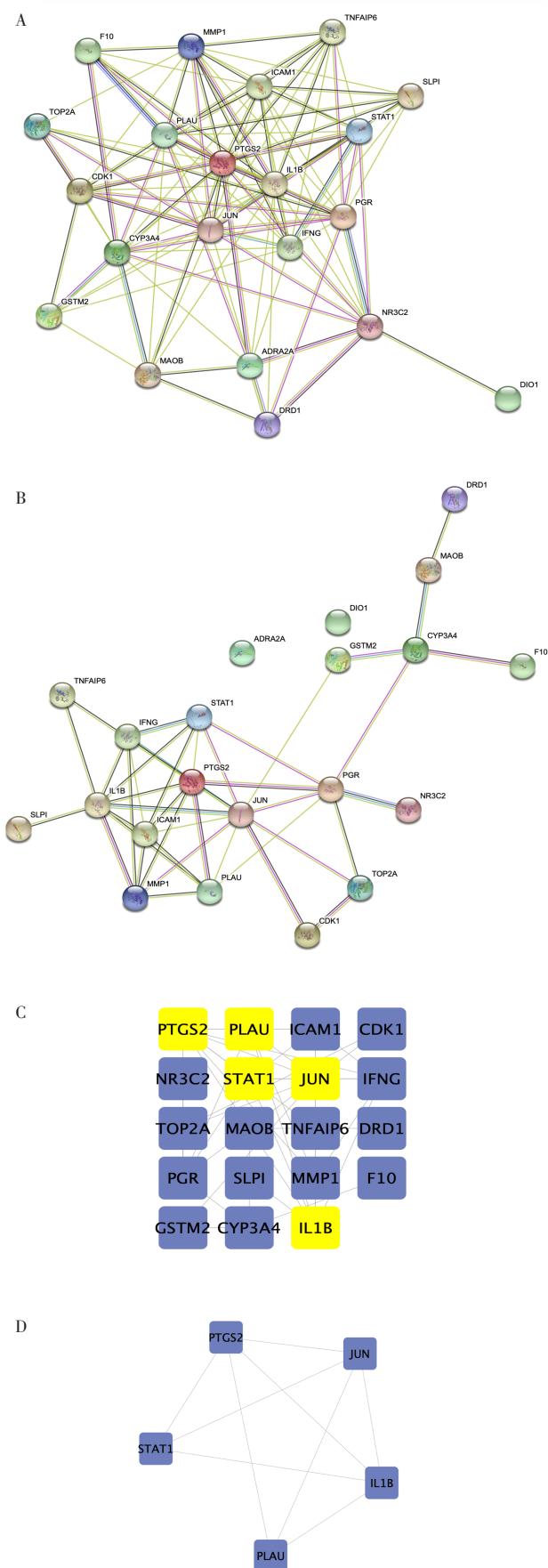


图4 人参-茯苓-白术治疗鼻咽癌交集靶点蛋白相互作用网络分析

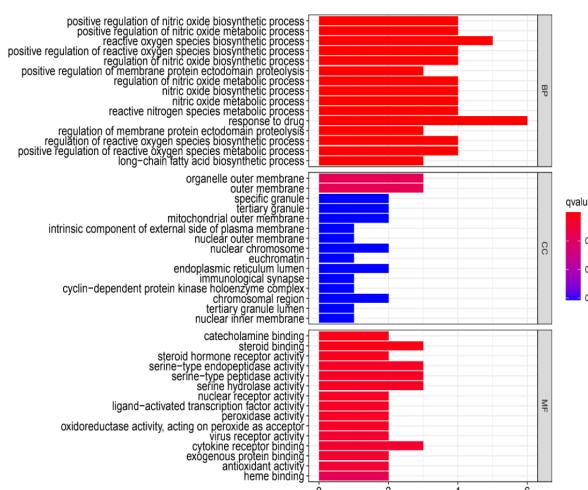


图5 人参-茯苓-白术治疗鼻咽癌交集靶点GO功能富集分析

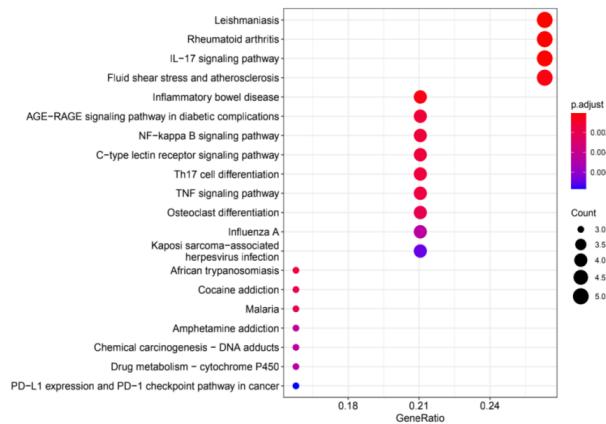


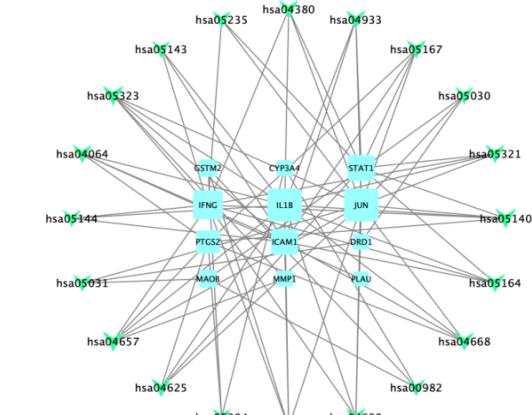
图6 人参-茯苓-白术治疗鼻咽癌交集靶点KEGG通路富集分析

2.6 交集靶点-KEGG关系网络

将人参-茯苓-白术配伍治疗鼻咽癌涉及的主要通路与对应交集靶点导入Cytoscape3.8.2软件构建交集靶点-KEGG关系网络（见图7）。该网络有41个节点（21个交集靶点节点和20个通路节点）和77条边。可以看出，IL1B、JUN基因及Leishmaniasis信号通路（hsa05140）、Rheumatoid arthritis信号通路（hsa05323）、IL-17信号通路（hsa04657）、Fluid shear stress and atherosclerosis信号通路（hsa05418）在该网络中起到核心调控作用。

2.7 分子对接

将鼻咽癌靶点蛋白导入Sybyl软件，加氢并修复侧链后基于Ligand（配体）模式（未发现配体的使用automatic模式）产生活性口袋，以SFXC格式保存，其他参数均设为默认值。将已进行能量优化的人参-茯苓-白术有效化合物导入软件，依次与相应的靶点蛋白进行对接，对接结果根据Total-Score进行评价，以Total-Score>5为阈值，该值越大，表明配合作用越好。对接结果见表2，对接模式见图8。

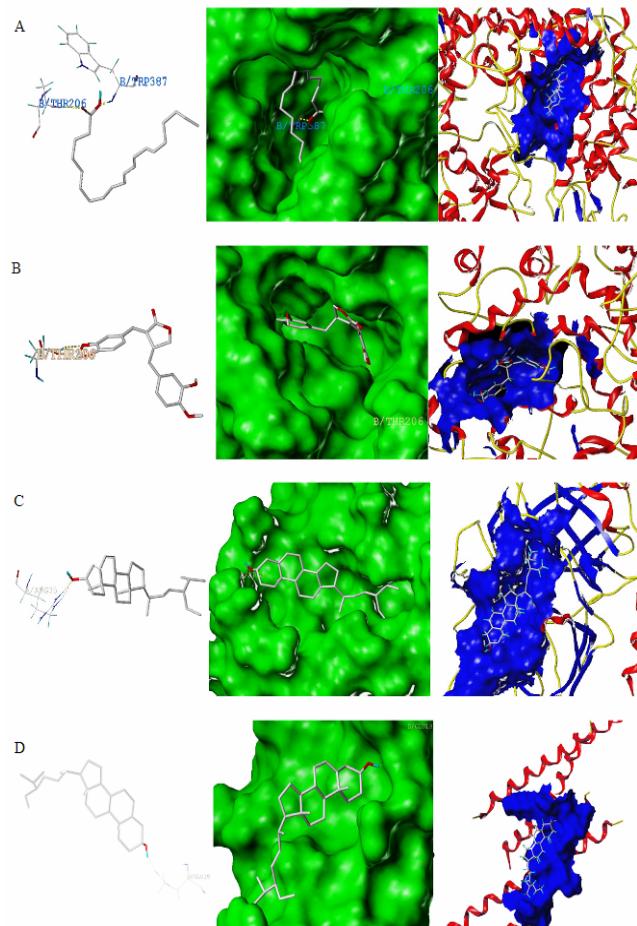


注：方形代表集靶点，箭头代表通路，节点大小与其权重成正比

图7 人参-茯苓-白术治疗鼻咽癌交集靶点-KEGG关系网络

表2 人参-茯苓-白术有效成分与靶点蛋白分子对接结果

MOL ID	成分	靶点蛋白	Total-Score
MOL005320	花生四烯酸	PTGS2	7.51
MOL005384	苏齐内酯	PTGS2	6.98
MOL000449	豆甾醇	PLAU	6.70
MOL000358	β-谷甾醇	JUN	5.76



注：A. 花生四烯酸-PTGS2；B. 苏齐内酯-PTGS2；

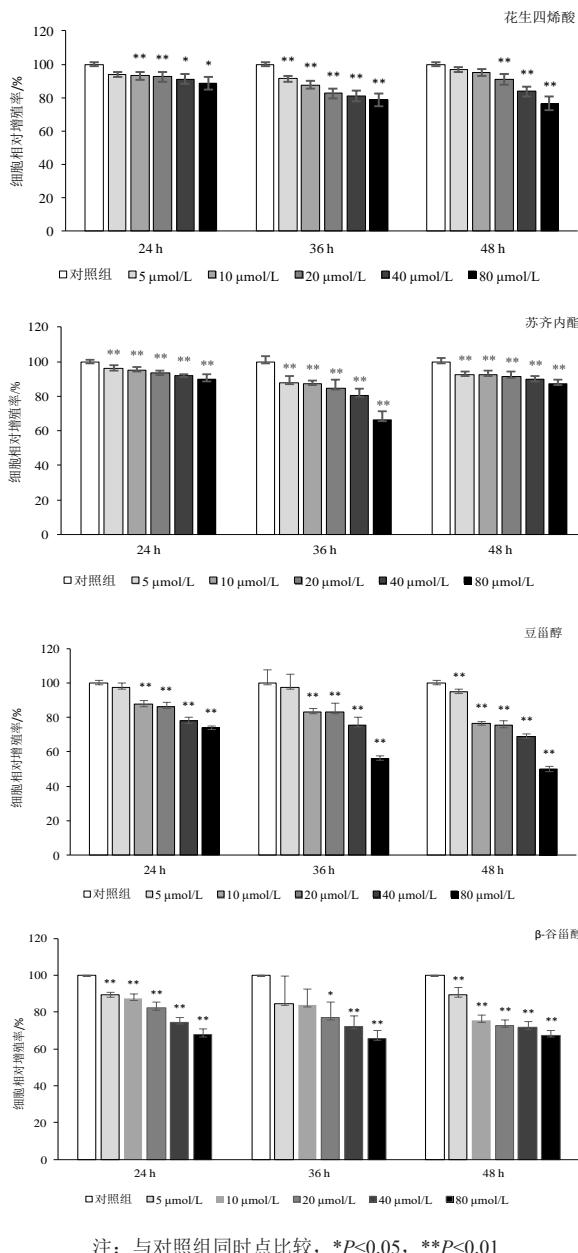
C. 豆甾醇-PLAU；D. β-谷甾醇-JUN

图8 人参-茯苓-白术有效成分与靶点蛋白分子对接模式

2.8 体外实验结果

2.8.1 CCK-8法检测细胞增殖

药物干预24、36、48 h, 与对照组比较, 不同浓度花生四烯酸、苏齐内酯、豆甾醇、 β -谷甾醇均可抑制鼻咽癌5-8F细胞增殖 ($P<0.05$, $P<0.01$), 见图9。

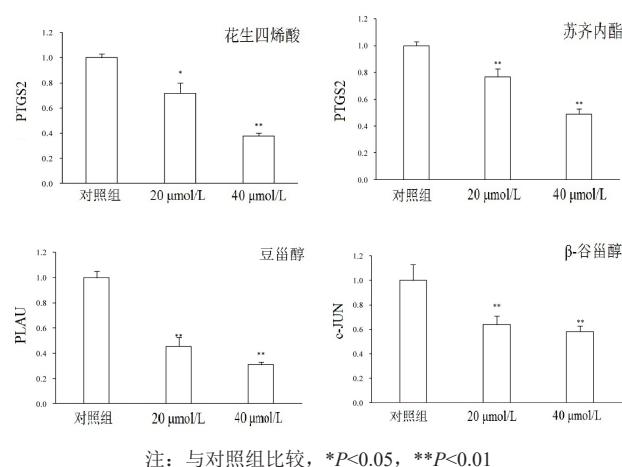


注: 与对照组同时点比较, $*P<0.05$, $**P<0.01$

图9 人参-茯苓-白术有效成分对5-8F细胞增殖的抑制作用

2.8.2 Western blot检测蛋白表达

根据分子对接结果, 花生四烯酸与PTGS2、苏齐内酯与PTGS2、豆甾醇与PLAU、 β -谷甾醇与JUN配合效果好。Western blot结果显示, 与对照组比较, 花生四烯酸组和苏齐内酯组PTGS2表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 豆甾醇组PLAU表达降低 ($P<0.01$), β -谷甾醇组c-JUN表达降低 ($P<0.01$)。见图10。



注: 与对照组比较, $*P<0.05$, $**P<0.01$

图10 人参-茯苓-白术治疗鼻咽癌有效化合物对靶点蛋白表达的影响

3 讨论

鼻咽癌属中医学“上石疽”“失荣”“真头痛”等范畴, 现代亦称为“颅颈癌”, 多为正气亏虚, 气虚染毒所致。脾为气血生化之源, 脾气健则气血生化有源, 正气足则外毒无以入侵。参苓白术散以人参、茯苓、白术为君药, 方中人参大补脾胃之气, 并鼓动全身正气, 白术、茯苓健脾渗湿, 脾气健而气血生化有源。

本研究利用GEO数据库得到2 078个鼻咽癌差异表达基因。利用TCMSP数据库获得人参-茯苓-白术44种有效化学成分, 二者交集靶点21个, 包括PTGS2等5个核心靶点。对核心靶点进行蛋白相互作用分析、GO和KEGG通路富集分析, 发现主要通过活性氧及一氧化氮生物合成过程、类固醇结合等生物过程, 及代谢、炎症等通路发挥作用。

研究发现, 花生四烯酸可通过抑制代谢产物的生成途径抑制促炎因子的表达, 起到保护血管内皮和抗炎的作用^[13]; 另外, 花生四烯酸及其代谢产物在肿瘤细胞增殖和转移、凋亡、血管新生和炎症反应及其治疗和预后方面具有重要作用^[14]。体外实验表明, 豆甾醇能抑制肝癌、胃癌、皮肤癌等多种肿瘤细胞生长, 其机制主要涉及上调凋亡基因表达, 诱导细胞周期阻滞、破坏肿瘤血管的生成等^[15]。 β -谷甾醇能通过多种细胞信号途径抑制多种癌症如乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、肺癌、胃癌等的发生与发展^[16]。

PTGS2是合成前列腺素的关键酶, 即COX-2, 可将花生四烯酸转化为PGH2进而导致炎症^[17]。COX-2高表达可见于许多肿瘤, 能诱导癌物的活化, 促进肿瘤血管生成、肿瘤浸润和转移, 影响细胞周期变化, 促进细胞增殖, 抑制凋亡, 并可能降低肿瘤细胞对放疗及化疗的敏感性^[18-23]。朱德为等^[24]对79例鼻咽癌患者的鼻咽组织进行免疫组化检测, 发现COX-2总阳性

率达63.3%。朱洪海等^[25]研究104例鼻咽癌患者，发现COX-2在有淋巴结转移的患者比例更高，提示COX-2可能与鼻咽癌的复发及远处转移相关。

综上所述，人参-茯苓-白术治疗鼻咽癌可从多成分、多靶点、多通路对疾病发展进行调控。本研究以参苓白术散的临床功效为基础，选取其君药进行分析。基于上述结果，后续可从以下几方面进行探索：围绕参苓白术散复方开展“病-证-方”关联网络研究，在临床实践基础上构建“鼻咽癌-脾虚湿盛证-参苓白术散”模型，开展更广泛的临床及基础研究，为鼻咽癌的临床治疗提供新思路；对参苓白术散的核心成分如花生四烯酸、豆甾醇和β-谷甾醇等展开更多基础研究，如拆方验证、血清药理学和动物细胞模型验证等；进一步探索PTGS2与鼻咽癌的相关性。本研究尚存在一定局限性：研究局限于参苓白术散君药，未纳入其他药物；中药复方成分复杂，活性成分之间的相互作用、各靶点的调控强度等因素未能纳入计算。

参考文献：

- [1] 何文龙, 吕炎, 胡云扬, 等. 放射联合药物治疗鼻咽癌的现状[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(2):346-348.
- [2] Petersson F. Nasopharyngeal carcinoma: A review[J]. Seminars in Diagnostic Pathology, 2015, 32(1):54-73.
- [3] Al-Sarraf M. Chemoradiotherapy versus radiotherapy in patients with advanced nasopharyngeal cancer: phase III randomized Intergroup study 0099[J]. Journal of Clinical Oncology, 1998, 16(4):1310-1317.
- [4] 邱元正, 刘超, 李果. 鼻咽癌放射治疗的现状与对策[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2015, 21(6):435-438.
- [5] Ou X, Xin Z, Shi Q, et al. Treatment outcomes and late toxicities of 869 patients with nasopharyngeal carcinoma treated with definitive intensity modulated radiation therapy: new insight into the value of total dose of cisplatin and radiation boost[J]. Oncotarget, 2015, 6(35):38381-38397.
- [6] Zhang L, Huang Y, Hong S, et al. Gemcitabine plus cisplatin versus fluorouracil plus cisplatin in recurrent or metastatic nasopharyngeal carcinoma: a multicentre randomised, open-label, phase 3 trial[J]. The Lancet, 2016, 388(10054):1883-1892.
- [7] 申文江, 王绿化. 放射治疗损伤[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2007:58.
- [8] Ma Q, Ouyang Y, Meng F, et al. A review of pharmacological and clinical studies on the application of Shenling Baizhu San in treatment of ulcerative colitis[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 244:112105.
- [9] 高玲玲, 单颖. 参苓白术散对感染鼠伤寒沙门菌小鼠的免疫调节作用[J]. 现代预防医学, 2019, 46(8):1450-1455.
- [10] 周波, 戴飞跃. 参苓白术散对胃癌IV期患者外周血CD4+CD25+Tregs的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2015, 35(5):50-52.
- [11] Xu X, Zhang W, Huang C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(6):6964-6982.
- [12] 胡晶, 戴娜, 徐冰雁, 等. 益气解毒方通过MAPK/ERK信号通路抑制鼻咽癌细胞增殖[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(6):1221-1227.
- [13] 肖彧君, 母义明, 詹晓蓉, 等. 花生四烯酸抑制饱和脂肪酸诱导的血管内皮细胞单核细胞趋化蛋白和细胞间黏附分子的表达[J]. 中华糖尿病杂志, 2005, 13(4):299-301.
- [14] 宋一萌, 李明真, 马潞林. 花生四烯酸代谢产物与肿瘤发生和发展的研究进展[J]. 临床泌尿外科杂志, 2017, 32(3):236-240.
- [15] 汪帅, 孙宇, 李春梅, 等. 豆甾醇的研究进展概述[J]. 中国药业, 2019, 28(23):96-98.
- [16] Bin Sayeed M S, Ameen S S. Beta-sitosterol: a promising but orphan nutraceutical to fight against cancer[J]. Nutr Cancer, 2015, 67(8):1214.
- [17] Kurumbail R G, Kiefer J R, Marnett L J. Cyclooxygenase enzymes: catalysis and inhibition[J]. Curr Opin Struct Biol, 2001, 11(6):752-760.
- [18] Karim A, McCarthy K, Jawahar A, et al. Differential cyclooxygenase-2 enzyme expression in radiosensitive versus radioresistant glioblastoma multiforme cell lines[J]. Anticancer Res, 2005, 25(1B):675-679.
- [19] Nix P, Lind M, Greenman J, et al. Expression of Cox-2 protein in radioresistant laryngeal cancer[J]. Ann Oncol, 2004, 15(5):797-801.
- [20] 白颖, 吴丹彤, 周凡, 等. 环氧合酶-2在白血病中的表达及其与耐药的相关性[J]. 实用临床医药杂志, 2013, 17(17):23-26.
- [21] 胡晓丽, 赵林胜, 刘薇, 等. 环氧合酶2选择性抑制剂塞来昔布对肾母细胞瘤G401的生长抑制作用[J]. 中华病理学杂志, 2012, 41(5):340-341.
- [22] 刘阳云, 赵素萍, 刘庚勋, 等. 环氧合酶-2 在预测鼻咽癌放疗效应中的价值[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 21(5):199-202.
- [23] Nakata E, Mason K A, Hunter N, et al. Potentiation of tumor response to radiation or chemo radiation by selective cyclooxygenase-2 enzyme inhibitors[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004, 58(2):369-375.
- [24] 朱德为, 刘庚勋. 环氧合酶-2对晚期鼻咽癌同期放化疗影响[J]. 临床军医杂志, 2016, 44(2):133-135.
- [25] 朱洪海, 朱晓远. 环氧化酶2与鼻咽癌颈淋巴结转移的关系[J]. 中华医学杂志, 2014, 94(18):1409-1412.

(收稿日期: 2022-05-13)
(修回日期: 2022-05-30; 编辑: 陈静)