

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2022.23.008

基于胃癌关键基因的中药抗肿瘤研究现状分析

王芮, 沈雨苗, 赵爱光✉

上海中医药大学附属龙华医院, 上海市徐汇区枫林路街道宛平南路 725 号, 200032



[摘要] **目的** 分析以胃癌关键基因为治疗靶点的中药在胃癌防治中的研究现状。**方法** 在 GEO 数据库中下载胃癌基因表达谱芯片数据, 经筛选后确定 GSE54129 和 GSE64916 两个数据集, 以 “ $P < 0.05$, $\text{Log}_2\text{FC} \geq 1$ ” 为截断值进行肿瘤组织与正常组织的差异表达基因筛选, 利用韦恩图取两个数据集的交集, 进行基因本体论 (GO) 分析、京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析及差异表达基因的蛋白互作 (PPI) 网络分析, 采用 Cytoscape (3.8.2 版本) 软件计算得出的关键基因, 在 Coremine Medical 数据库中对关键基因进行检索, 在 “traditional Chinese medicine” 条目中得到以关键基因作为治疗靶点的中药。对得到的中药进行频次统计, 选择前 5 味中药, 在中文及外文数据库中对其在胃癌中的相关研究进行文献检索。将检索到的文献分为临床研究、网络药理学分析、数据挖掘/处方经验、基础实验, 对研究现状进行总结。**结果** 韦恩图取交集后得到两个数据集有 150 个共同的差异表达基因, 富集到的生物功能与通路主要有 PI3K/AKT 通路、上皮细胞转移、胶原蛋白细胞外基质等。利用 String 绘制 PPI 网络, 进一步在 Cytoscape 中根据自由度大小选出前 10 位的关键基因: CDKN2A、SPPI1、CTGF、C3、CST3、APOB、GC、IL18、CCND1、CD34。应用 Coremine medical 数据库分析得到治疗关键基因靶点的中药, 对检索到的中药进行频次统计, 出现频次最高的前五味中药分别为黄芪 (与 9 个基因有关), 白花蛇舌草、淫羊藿、三七 (各与 4 个基因有关), 菝葜 (与 3 个基因有关)。外文数据库未检索到相关文献, 于 2022 年 2 月 20 日在中文 CNKI 数据库分别以 “胃癌” “胃恶性肿瘤” and “黄芪” “白花蛇舌草” “淫羊藿” “三七” “菝葜” 进行检索, 仅中药黄芪有临床研究, 共 49 篇; 网络药理学分析中黄芪有 8 篇, 白花蛇舌草 3 篇, 其他中药未检索到; 数据挖掘/处方规律研究中黄芪 21 篇, 白花蛇舌草 4 篇, 其他中药未检索到; 基础实验中黄芪 35 篇, 白花蛇舌草 15 篇, 三七 6 篇, 淫羊藿 3 篇, 菝葜 4 篇, 其中黄芪与三七有一项基础实验研究重合。临床研究多涉及黄芪提取物注射液联合其他治疗对患者临床疗效及不良反应的影响; 网络药理学分析中, 包括的药对有黄芪-党参/白术/莪术/女贞子、白花蛇舌草-半枝莲等; 数据挖掘多集中在黄芪、白花蛇舌草两味中药; 基础实验研究多以药物单体为主。**结论** 治疗胃癌组织与正常组织的关键差异表达基因靶点的中药主要有黄芪、白花蛇舌草、三七、淫羊藿、菝葜, 目前以黄芪的相关研究最多。

[关键词] 胃癌; 基因芯片; 生物信息分析; 关键基因

据统计, 胃癌是全球第三大癌症死亡原因^[1]。目前手术和围手术期化疗是胃癌的标准治疗方法, 但即使是处于相同疾病分期且采用了相同治疗手段的患者, 其预后仍然存在较大差异, 提示胃癌的异质性较强^[2]。既往认为幽门螺杆菌 (HP) 感染、饮食不当、吸烟饮酒等是导致胃癌发生的主要危险

因素, 却忽视了环境及遗传因素在胃癌发生发展中的作用^[3]。随着高通量测序技术的不断发展和对癌症遗传特征的深入了解, 目前从分子层面对胃癌的研究越来越多, 抗人表皮生长因子受体-2 (HER2) 的曲妥珠单抗已被确定为 HER2 阳性晚期胃癌的一线治疗药物^[4]。抗血管内皮细胞生长因子受体-2 (VEGFR2) 的单克隆抗体雷莫芦单抗也已被推荐用于晚期胃癌的二线治疗^[5]。以程序性细胞死亡-配体 1 (PD-L1) 阳性表达、EB 病毒 (EBV) 阳

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFC1700605); 国家科技重大专项 (2017ZX09304001)

✉ 通讯作者: aiguanzhao@qq.com

性、微卫星高度不稳定 (MSI-H)、高肿瘤突变负荷 (TMB-H) 等为生物标志物指导的免疫治疗也在胃癌患者中具有较好的应答^[6]。基于 CheckMate 649 研究^[7] 结果, 纳武利尤单抗联合化疗已经在国内获批晚期胃癌一线全人群适应症用药, 其应用与 PD-L1 表达和 HER2 状态无关。中国临床肿瘤学会发布的指南已将该方案推荐用于胃癌一线治疗, 限定人群为 HER2 阴性、PD-L1 阳性联合评分 (CPS) ≥ 5 的人群^[8]。由此可见, 以基因检测为基准的个体化精准治疗在胃癌治疗中发挥着越来越重要的作用。

肿瘤蛋白 p53 (TP53) 突变是胃癌患者中最常见的突变基因, 编码的磷酸化蛋白 (P53) 是研究最深入的肿瘤抑制蛋白之一, 在多种肿瘤中存在 P53 失活的现象^[9]。胃癌中经常发生磷脂酰肌醇-3-激酶催化亚单位 α (PIK3CA)、AT 丰富结合域 1A (ARID1A)、E-钙黏蛋白 (CDH1) 基因突变^[10]。其中 PIK3CA 基因编码磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 蛋白, PI3K/蛋白激酶 B (AKT) 通路是参与正常细胞过程的重要信号通路之一, 异常激活调节人类癌症中的自噬、上皮间质转化、凋亡、转移和化疗耐药^[11]; CDH1 在胃癌中的突变率达 37%^[10]; 胃癌中 ARID1A 基因突变率约为 16.7%, 变异多以无义突变或移码突变为主, 其基因突变会导致蛋白表达缺失^[12]。中药可通过干预相关基因靶点治疗疾病, 对相关基因靶点, 既可在药物干预某种疾病人群或相应模型动物后进行基因检测, 也可以通过网络药理学进行药物靶点基因的预测。研究方式多是整合基因芯片数据与网络药理学进行预测, 或可利用基础实验加以验证。研究对象以单味中药、中药单体, 药对、复方的形式。目前研究显示, 胃癌中聚焦到的分子通路包括 PI3K/AKT 信号通路^[13]、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路^[14]、白细胞介素^[15]、肿瘤坏死因子^[16]、核因子 KB (NF-KB) 信号通路^[17] 等。本研究旨在探索胃癌关键基因及其为治疗靶点的中药的研究现状, 从基因层面上为中医药抗肿瘤作用提供依据, 并为后续研究提供思路。

1 材料与方法

1.1 差异表达基因筛选

GEO (Gene Expression Omnibus) 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 是由美国国立生物技术中心 (NCBI) 创建并维护的基因表达数据库。于 2021 年 8 月 25 日在 GEO 门户网站中以 “gastric

cancer” 和 “homo sapiens” 为关键词检索到符合要求的胃癌 mRNA 表达谱基因芯片数据集共两个, 分别为 GSE54129 和 GSE64916。GSE54129 包含 21 份正常胃黏膜组织, 111 份胃癌组织。GSE64916 则包含有 1 份正常胃黏膜组织, 4 份胃癌组织。通过 R 语言 (4.1.0 版本) 软件中的 “GEOquery” “limma” 程序包进行生信分析, 分别对两个数据集的芯片数据进行下载与整理分析, 以 “ $P < 0.05$, $\log_2 FC \geq 1$ ” 为截断值进行差异表达基因的筛选。利用 “VennDiagram” 程序包绘制韦恩图并取交集, 得到在两个数据集中共同表达的差异基因。

1.2 差异表达基因功能富集分析

利用 R 语言中的 “clusterProfiler” 程序包对共同差异基因进行基因本体论 (GO) 分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。GO 分析包括分子功能、生物过程和细胞组成三个部分。KEGG 除了对基因本身功能的注释外, 还可对基因参与通路进行富集分析。以 $P < 0.05$ 筛选有统计学意义的生物学通路。

1.3 蛋白互作网络构建与关键基因分析

利用 String 数据库 (<https://www.string-db.org/>) 进行差异表达基因的蛋白互作网络 (PPI) 分析。将得分 > 0.4 的基因输入 Cytoscape (3.8.2 版本) (<https://cytoscape.org/>) 软件进行可视化分析, 并利用 Cytoscape 中插件 cytoHubba 分析计算出每个基因的自由度 (degree), degree 值越大, 说明该节点基因在网络中的生物功能越多。选取 degree 值排在前 10 位的关键基因进行后续分析。

1.4 基因与靶点中药分析

Coremine Medical (<http://www.coremine.com/medical/>) 数据库是挪威与中国科学院、中国医学科学院、美国国立医学图书馆等多家机构联合开发的医学信息检索平台。在门户网站的检索栏输入基因名即可得到已被研究证实过的与该基因相关的治疗药物。于 2021 年 9 月 5 日进行基因靶点中药的检索。在 Coremine Medical 网站 “Explore” 栏目的检索框中输入基因名, 选择后缀含有 “gene/protein, Human” 对应的基因名, 选择 “traditional Chinese medicine” 栏目, 则可将该基因靶点的所有中药检索出来, 结果中对应有统计学意义的药物已用蓝色标记标出, 选择此类药物作为该基因靶点的治疗中药。将得到的经 PPI 筛选出的 degree 值位列前 10 的关键基因依次键入检索栏, 如上法对基因为治疗靶点的中药进行筛选, 通过频次统计得出频次前 5 位

的中药。

1.5 治疗关键基因靶点的中药在胃癌中的研究概述

对治疗关键基因靶点的中药在胃癌中的相关研究分别进行检索。系统检索中文数据库中国知网 (CNKI) 及外文数据库 PubMed、Embase, Web of Science, 检索时限为数据库建库至 2022 年 2 月 20 日。中文以“胃癌”“胃肿瘤”“胃恶性肿瘤”and “依据上述标准选定的中药名”为检索词进行文献检索, 语言限定为中文。英文以“stomach neoplasms” OR “gastric cancer” OR “gastric carcinoma” OR “stomach cancer” AND “中药名对应的英文名称”, 检索语言限定为英文。将检索的文献分为临床研究、网络药理学分析、数据挖掘/处方规律、基础实验 4 大类, 对相关中药在胃癌中的研究进行分析、总结。

2 结果

2.1 识别差异基因

经生物信息分析得出 GSE54129 中共有 2577 个胃癌组织与正常组织的差异表达基因, GSE64916 中有 728 个差异表达基因, 两个数据集中共有的差异表达基因为 150 个。

2.2 GO 分析与 KEGG 分析结果

GO 分析中生物过程 (BP) 主要集中在阿米巴型细胞迁移、组织迁移、上皮细胞转移 (见附图 1, 扫描本文二维码获取), 细胞组成 (CC) 主要集中在胶原蛋白细胞外基质、内质网腔、细胞间连接 (见附图 2, 扫描本文二维码获取), 分子功能 (MF) 主要集中在整合素结合、糖胺聚糖结合、细胞外基质结构成分 (见附图 3, 扫描本文二维码获取)。KEGG 分析显示差异表达基因主要富集的通路有: 脂肪消化与吸收、阿米巴病、PI3K-AKT 信号通路 (见附图 4, 扫描本文二维码获取)。

2.3 PPI 网络构建及关键基因分析

150 个共同差异表达基因 (见附图 5, 扫描本文二维码获取) 中, 经 Cytoscape 中插件 cytoHubba 计算每个基因的 degree 值, 根据 degree 值由大到小的 10 个关键基因名分别是: CDKN2A、SPP1、CTGF、APOB、CST3、C3、CD34、COL5A1、GC、IL18 (见附图 6, 扫描本文二维码获取)。

2.4 识别关键基因靶点中药

如表 1 所示, 以 10 个关键基因为治疗靶点的中药共检索到 90 个, 根据频次统计的结果, 选择出现次数较高的前 5 味中药进行后续分析。其中黄芪

与 10 个胃癌关键基因中的 9 个有关, 白花蛇舌草、三七、淫羊藿分别与 4 个胃癌关键基因有关, 菝葜与 3 个胃癌关键基因有关。多个胃癌基因靶点于某药物, 表明该药物可能在治疗胃癌过程中具有重要作用, 故选择该 5 味中药进行后续分析。其他中药因出现频次较低, 不进一步探究。

表 1 10 个胃癌关键基因靶点的治疗中药

基因	中药
CDKN2A	蜂房, 阿胶, 当归, 垂盆草, 旋复花, 白花蛇舌草, 三七, 大血藤, 甘草, 杏仁
SPP1	连钱草, 地龙, 花椒, 骨碎补, 淫羊藿, 黄芪, 菝葜子, 菊花, 巴戟天, 海马
CTGF	关木通, 鹅不食草, 黄芪, 地龙, 土茯苓, 葶苈子, 石斛, 当归, 青皮, 泽泻
APOB	红花, 黄芪, 仙人掌, 黄连, 紫苏, 白花蛇舌草, 泽泻, 苦瓜, 大黄, 薤白
CST3	竹节参, 栀子, 枸杞子, 山栀子, 黄芪, 蒺藜, 雷公藤, 杜仲, 马齿苋, 三七
C3	爬山虎, 海参, 黄芪, 白花蛇舌草, 淫羊藿, 白茅根, 阿胶, 菝葜, 木通, 蝉蜕
CD34	白茅根, 细辛, 石上柏, 莪术, 黄芪, 骨碎补, 升麻, 茶树根, 葛根, 菝葜
COL5A1	海参, 黄芪, 三七花, 三七, 三七叶, 淫羊藿
GC	水牛角, 蚕沙, 黄芪, 淫羊藿
IL18	草薢, 冬虫夏草, 泽兰, 菝葜, 山楂, 黄芪, 竹荪, 三七, 白花蛇舌草, 丁香

注: 表中中药排序为检索所得顺序。

2.5 治疗关键基因靶点中药的文献分析结果

于 2022 年 2 月 20 日检索黄芪、白花蛇舌草、三七、淫羊藿、菝葜的胃癌相关研究。外文数据库检索到的文献篇数为 0。CNKI 数据库以“黄芪”and “胃癌”“胃肿瘤”“胃恶性肿瘤”共检索到 332 篇, “白花蛇舌草”and “胃癌”“胃肿瘤”“胃恶性肿瘤”共检索到 90 篇, “三七”and “胃癌”“胃肿瘤”“胃恶性肿瘤”共检索到 50 篇, “淫羊藿”and “胃癌”“胃肿瘤”“胃恶性肿瘤”共检索到 7 篇, “菝葜”and “胃癌”“胃肿瘤”“胃恶性肿瘤”共检索到 8 篇。通过阅读摘要后去除医案、综述及与主题无关的文献, 共获得文献 147 篇 (见附件 1, 扫描本文二维码获取)。将相应文献按照临床相关研究、网络药理学分析、数据挖掘/处方规律、基础实验进行分类。表 2 示, 黄芪的相关研究最多, 白花蛇舌草次之, 三七、淫羊藿、菝葜均只检索到基础实验研究。在临床研究模块, 仅涉及黄芪一味中药, 黄芪相关的临床研究多为黄芪提取物

注射液联合其他治疗对患者临床疗效、生活质量或免疫功能的影响及对不良反应的改善作用。网络药理学模块中, 黄芪相关的药对有黄芪-白术/党参/女贞子/丹参/莪术等, 主要影响 PI3K/AKT 这一经典癌症信号通路及白细胞介素而发挥抗癌作用; 白花蛇舌草药对主要为白花蛇舌草-半枝莲。数据挖掘模块主要集中在黄芪、白花蛇舌草两味中药。5 味药物均有相关的基础实验研究, 多以药物单体的研究为主, 主要包括黄芪多糖、黄芪甲苷、黄芪皂苷、白花蛇舌草总黄酮、白花蛇舌草多糖、三七总皂苷、淫羊藿苷、菝葜皂苷。

表2 治疗关键基因靶点中药的相关文献检索结果 (篇)

中药	临床研究	网络药理学分析	数据挖掘/处方规律	基础实验	合计
黄芪	49	8	21	35	113
白花蛇舌草	0	3	4	15	22
三七	0	0	0	6	6
淫羊藿	0	0	0	3	3
菝葜	0	0	0	4	4
合计	49	11	25	63	148

注: 基础实验中黄芪与三七有一项研究重合, 故最终有 147 篇文献。

3 讨论

目前, 大量研究致力于从分子层面上解释疾病的病因、诊断、治疗和预后。胃癌属于高度异质性的恶性肿瘤, 且预后不良, 其研究领域相较于肺癌、乳腺癌和结直肠癌等癌种发展相对落后。中医中药在延长胃癌患者的生存期、提高生活质量等方面具有明显优势^[18-19]。有多位学者利用基因芯片、网络药理学、生物信息分析和数据挖掘等方法探究中药治疗肿瘤分子层面的作用机制, 寻找癌症治疗的常用中药作用靶点及其参与调控的通路^[20-21]。本研究利用生物信息分析找到胃癌与正常组织的差异表达基因, 对差异表达基因进行功能分析, 经 PPI 选择出关键差异表达基因, 找到治疗关键基因靶点的中药, 进一步利用数据库检索中药在胃癌中的相关研究, 对检索结果进行梳理和陈列, 为中医药治疗胃癌提供基因层面的依据。该方法又从反面印证了利用关键基因筛选抗癌中药这一方法的可行性, 为抗癌中药研究提供思路。

本研究得出共有差异表达基因富集到的通路有 PI3K/AKT 信号通路, 该通路是经典的癌症信号通路之一, PI3K 通路的失调在恶性肿瘤发生发展中

起着重要作用^[22]。其可以激活细胞的增殖、运动和生长, 可被多种生长因子受体激活而传递信号, 包括 HER2。抗 HER2 抗体曲妥珠单抗开启了胃癌个体化治疗的时代, 有研究认为 PI3K 通路激活与曲妥珠耐药有关^[23]。此外, PI3K/AKT 信号通路的频繁激活常常由 PIK3CA 基因突变或人第 10 号染色体缺失的磷酸酶 (PTEN, 一种肿瘤抑制蛋白) 功能丧失引发, 两者在调节这一通路的过程中均发挥着重要作用^[23]。理论上针对这些标志物的靶向治疗应该可以获得较好的抗癌效果, 相关抑制剂目前正处于临床前或临床阶段, 用来治疗胃癌等实体瘤^[24]。本研究得到的差异表达基因聚焦到该通路, 佐证了 PI3K/AKT 信号通路失调及相关上下游分子的功能异常在胃癌研究领域的重要地位。

筛查到的 10 个关键基因之一的 SPP1 经研究证实为微小核糖核酸 340 (miR-340) 的靶基因, 通过介导 PI3K/AKT 信号通路抑制胃癌细胞的增殖、侵袭、转移和上皮间质转化^[25]。CTGF 是基质细胞蛋白家族成员之一, 在包括癌变在内的许多生理和病理过程中发挥重要作用, 研究表明, 胃癌中 CTGF 高表达与更多的淋巴结转移、较晚的肿瘤分期及易复发转移相关^[26]。补体 C3 是补体激活级联反应的中心分子, 可刺激免疫细胞的募集和激活, 认为在肿瘤微环境中可能起着双重作用, 研究表明, 补体 C3 沉积可作为免疫信号预测胃癌复发^[27]。IL-18 是一种促炎细胞因子, IL-18 的阳性表达有可能参与胃癌的复发与转移^[28]。CD34 与胃癌的印戒状组织有关, 在基因敲除 CD34 后, 胃印戒状组织消失^[29]。研究^[30]表明, COL5A1 通过被 miR-29a-3p 下调, 使胃癌细胞中的 Wnt/ β -连环蛋白途径 (Wnt/ β -catenin) 通路失活从而抑制胃癌进展。与正常组织相比, 细胞周期依赖性激酶抑制基因 (CDKN2A) 在胃癌中呈现高甲基化^[31]。10 个关键基因中 CST3、GC、APOB 在胃癌中未见报道, 今后可探寻这些基因在胃癌发生、进展、治疗、预后中的价值。

本研究对治疗上述关键差异表达基因靶点的中药的相关研究进行了检索, 发现黄芪与 10 个关键基因中 9 个有关, 检索到的相关研究数量也最多。黄芪味甘, 性微温, 归脾、肺经, 具有补气固表、托毒排脓、利尿生肌之功。现代药理研究表明, 黄芪抗肿瘤作用主要表现在抑制肿瘤细胞增殖、迁移, 诱导肿瘤细胞凋亡, 黄芪的补气固表功效体现了调节免疫对抗肿瘤的重要性^[32], 符合胃癌本虚

标实, 治疗当以扶正为主的原则。本次虽检索到黄芪相关的临床研究 50 项, 但是缺乏大样本、高质量的研究, 期待今后可以进行前瞻性大样本的随机试验证实黄芪制剂在胃癌治疗中的有效性。白花蛇舌草、三七、淫羊藿、菝葜未检索到胃癌相关的临床试验。网络药理学研究主要以药对的形式呈现, 有关黄芪的药对共检索到 8 项, 黄芪分别与白术、党参、莪术、女贞子组成药对进行分析, 主要影响 PI3K/AKT 这一经典癌症信号通路及细胞因子白细胞介素而发挥抗癌作用, 而本文胃癌差异表达基因经 KEGG 分析得到参与的生物学通路就包括 PI3K/AKT 信号通路, 进一步佐证了通过胃癌关键基因探索抗癌中药的可行性。治疗关键基因靶点的中药中 5 味药在胃癌中均有基础实验报道, 研究对象均为中药的单体化合物, 如黄芪多糖、黄芪甲苷、白花蛇舌草总黄酮、三七皂苷、淫羊藿苷、菝葜皂苷。中药单体相对于单味药或复方而言, 成分较为单一, 易于研究, 认可度相对较高, 相关文章发表较多。

本研究利用基因芯片数据分析胃癌与正常组织关键差异表达基因, 富集分析出基因参与的生物学功能和通路, 公共数据库中探寻治疗关键基因靶点的中药, 通过文献检索得到这些中药在胃癌中相对较多的研究报道, 为中医药治疗胃癌在基因层面上提供证据支持, 也可为今后肿瘤治疗的中药研究提供思路。本研究也存在一定局限性。首先, 治疗关键基因靶点的中药通过该基因参与何种通路在胃癌中起到抑癌作用不明, 无法从机制上进行解释。其次, 中医中药遵循辨证论治、整体观念, 继而进行遣方用药, 药物应用讲究君臣佐使配伍, 多以中药复方的形式发挥作用, 单味中药在疾病治疗中的作用有限。今后应增加设计合理的基础实验对本研究结果进行验证。最后, 中药复方的含药血清或者冻干粉是可选的研究方法, 但是其有效性、认可度及与中药汤剂的还原度仍需进一步考量。

参考文献

- [1]SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2]AJANI JA, LEE J, SANO T, et al. Gastric adenocarcinoma [J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3: 17036. doi: 10.1038/nrdp. 2017. 36.
- [3]YANG L, YING X, LIU S, et al. Gastric cancer: epidemiology, risk factors and prevention strategies [J]. Chin J Cancer Res, 2020, 32(6): 695-704.
- [4]BANG YJ, CUTSEM EV, FEYEREISLOVA A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial [J]. Lancet, 2010, 376(9742): 687-697.
- [5]FUCHS CS, TOMASEK J, YONG CJ, et al. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. Lancet, 2014, 383(9911): 31-39.
- [6]HE CY, QIU MZ, YANG XH, et al. Classification of gastric cancer by EBV status combined with molecular profiling predicts patient prognosis [J]. Clin Transl Med, 2020, 10(1): 353-362.
- [7]JANJIGIAN YY, SHITARA K, MOEHLER M, et al. First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): a randomised, open-label, phase 3 trial [J]. Lancet, 2021, 398(10294): 27-40.
- [8]WANG FH, ZHANG XT, LI YF, et al. The Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO): clinical guidelines for the diagnosis and treatment of gastric cancer, 2021 [J]. Cancer Commun (Lond), 2021, 41(8): 747-795.
- [9]Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma [J]. Nature, 2014, 513(7517):202-209.
- [10]USUI G, MATSUSAKA K, MANO Y, et al. DNA methylation and genetic aberrations in gastric cancer [J]. Digestion, 2021, 102(1):25-32.
- [11]FATTAHI S, AMJADI-MOHEB F, TABARIPOUR R, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling in gastric cancer: epigenetics and beyond [J]. Life Sci, 2020, 262: 118513. doi: 10.1016/j.lfs. 2020. 118513.
- [12]BITLER BG, FATKHUTDINOV N, ZHANG R. Potential therapeutic targets in ARID1A-mutated cancers [J]. Expert Opin Ther Targets, 2015, 19(11):1419-1422.
- [13]CHEN W, LI J, LI C, et al. Network pharmacology-based identification of the antitumor effects of taraxasterol in gastric cancer [J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2020, 34: 2058738420933107. doi: 10.1177/2058738420933107.
- [14]HAN L, HAN Y. Network pharmacology-based study on the active component and mechanism of the anti-gastric-

- cancer effect of herba sarcandrae [J]. J Healthc Eng, 2021, 2021: 3001131. doi: 10.1155/2021/3001131.
- [15] QU Y, YANG X, LI J, et al. Network pharmacology and molecular docking study of zhishi-baizhu herb pair in the treatment of gastric cancer [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 2311486. doi: 10.1155/2021/2311486.
- [16] 孙倩, 杨美子, 栾继昕, 等. 基于 WGCNA 和分子对接分析干姜黄芩黄连人参汤干预胃腺癌的成分及靶点 [J]. 中国医药导报, 2022, 19(3): 18-23.
- [17] 覃薇, 殷梓辛, 华维维, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨通关藤治疗胃癌的作用机制 [J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(1): 1-7, 17.
- [18] 王殷东, 孙璐, 许雯, 等. 中药复方胃肠安对胃癌肝转移患者总生存期的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(12): 6285-6289.
- [19] 朱晓虹, 许雯, 赵秋枫, 等. 健脾为主中药复方联合化疗延长晚期胃癌复治患者生存期的前瞻性对照研究 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(8): 1844-1848.
- [20] 宋厚盼, 刘恒铭, 仇婧玥, 等. 胃癌发病关键基因调控网络构建及其靶向治疗中药活性成分筛选研究 [J]. 中草药, 2021, 52(22): 6939-6952.
- [21] 负张君, 王慧静, 俞仪萱, 等. 基于生物信息学技术筛选结直肠癌的差异基因和中药预测研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(6): 1666-1676.
- [22] ENGELMAN JA, LUO J, CANTLEY LC, et al. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism [J]. Nat Rev Genet, 2006, 7(8): 606-619.
- [23] SUKAWA Y, YAMAMOTO H, NOSHO K, et al. HER2 expression and PI3K-Akt pathway alterations in gastric cancer [J]. Digestion, 2014, 89(1): 12-17.
- [24] SINGH SS, YAP WN, ARFUSO F, et al. Targeting the PI3K/Akt signaling pathway in gastric carcinoma: a reality for personalized medicine [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(43): 12261-12273.
- [25] SONG SZ, LIN S, LIU JN, et al. Targeting of SPP1 by microRNA-340 inhibits gastric cancer cell epithelial-mesenchymal transition through inhibition of the PI3K/AKT signaling pathway [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(10): 18587-18601.
- [26] CHENG TY, WU MS, HUA KT, et al. Cyr61/CTGF/Nov family proteins in gastric carcinogenesis [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(7): 1694-1700.
- [27] YUAN K, YE J, LIU Z, et al. Complement C3 overexpression activates JAK2/STAT3 pathway and correlates with gastric cancer progression [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 9.
- [28] TAS F, TILGEN YC, KARABULUT S, et al. Clinical significance of serum interleukin-18 (IL-18) levels in patients with gastric cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2015, 70: 19-23. doi: 10.1016/j.biopha.2014.12.040.
- [29] YOON SJ, PARK J, SHIN Y, et al. Deconvolution of diffuse gastric cancer and the suppression of CD34 on the BALB/c nude mice model [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 314.
- [30] HAN S, WANG Z, LIU J, et al. miR-29a-3p-dependent COL3A1 and COL5A1 expression reduction assists sulforaphane to inhibit gastric cancer progression [J]. Biochem Pharmacol, 2021, 188: 114539. doi: 10.1016/j.bcp.2021.114539.
- [31] XU J, LI N, DENG W, et al. Discovering the mechanism and involvement of the methylation of cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (CDKN2A) gene and its special locus region in gastric cancer [J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 1286-1298.
- [32] 张瑞华, 张静文, 刘玲, 等. 黄芪及其有效组分药理作用与临床应用现状 [J]. 陕西中医, 2021, 42(8): 1138-1141, 1146.

Research Status of Key Genes-target Chinese Herbal Medicine for the Treatment of Gastric Cancer

WANG Rui, SHEN Yumiao, ZHAO Aiguang

Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 200032

ABSTRACT Objective To analyze the research status of gastric cancer (GC) key genes-targeted Chinese herbal medicinals (CHMs) in the prevention and treatment of GC. **Methods** The chip data of GC gene expression profiling was downloaded from GEO database. After screening, GSE54129 and GSE64916 data sets were selected. The differentially expressed genes between tumor and normal tissues were screened out with " $P < 0.05$, $\log_2fc \geq 1$ " as the cut-off value. Wayne diagram was used to take the intersection of the two data sets for Gene Ontology (GO) analysis, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment and protein-protein interaction (PPI) analysis. The key genes calculated by Cytoscape software 3.8.2 were searched in the Coremine Medical database, and the key genes-targeted CHMs were obtained in the entry of "traditional Chinese medicine". The frequency of the obtained

CHMs were counted, and the top five CHMs were searched in the literature databases for their related researches on GC. The retrieved literature was classified into four categories including clinical research, network pharmacology analysis, data mining/prescription experience, and experimental research, and the research status was summarized.

Results The two data sets obtained through intersection by Wayne diagram had 150 common differentially expressed genes. The enriched biological functions and pathways mainly included PI3K/AKT pathway, epithelial cell transfer, and collagen extracellular matrix. Using String to draw PPI network, the top 10 key genes obtained in Cytoscape according to the degree of freedom were CDKN2A, SPP1, CTGF, C3, CST3, apoB, GC, IL18, CCND1 and CD34. The Coremine medical database was used to analyze the key genes-target CHMs, and the top five CHMs with the highest frequency were Huangqi (*Radix Astragali*) in relation to 9 genes, Baihua Sheshe Cao (*Herba Hedyotis Diffusae*), Yinyanghuo (*Herba Epimedii*), and Sanqi (*Radix et Rhizoma Notoginseng*) each in relation to four genes, and Baqia (*Rhizoma Smilacis Chinae*) in relation to three genes. No relevant literature was found in the foreign language database. The Chinese CNKI database was searched with “gastric cancer”, “stomach malignant tumor”, and “Huangqi”, “Baihua Sheshe Cao”, “Yinyanghuo”, “Sanqi”, “Baqia”, and only 49 clinical researches focusing on Huangqi were found. In terms of the network pharmacological analysis, there were 8 papers about Huangqi and three papers about Baihua Sheshe Cao, with no papers related to other three herbs. For data mining/prescription experience, there were 21 papers of Huangqi and four papers of Baihua Sheshe Cao, and no paper was found for other three herbs. In the experiment researches, there were 35 articles of Huangqi, 15 articles of Baihua Sheshe Cao, 6 articles of Sanqi, 3 articles of Yinyanghuo and 4 articles of Baqia, among which, there was one experimental research exploring both Huangqi and Sanqi. Clinical studies mostly explored the effects and safety of Huangqi Extract Injection (黄芪提取物注射液) combined with other therapy in the treatment of GC. From network pharmacology analysis, the drug pairs including Huangqi-Dangshen (*Radix Codonopsis*)/ Baizhu (*Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*)/ Ezhu (*Rhizoma Curcumae*)/ Nüzhenzi (*Fructus Ligustri Lucidi*), and Baihua Sheshe Cao-Banzhilian (*Herba Scutellariae Barbatae*). Data mining was mostly concentrated on herbs, which were Huangqi and Baihua Sheshe Cao. The basic experimental researches mostly explored the herbal monomers. **Conclusion** The CHMs target to key differentially expressed genes between GC and normal tissues are Huangqi, Baihua Sheshe Cao, Sanqi, Yinyanghuo, and Baqia, and currently, Huangqi is mostly explored in the researches.

Keywords gastric cancer; gene chip; bioinformatics analysis; key genes

(收稿日期: 2021-11-07; 修回日期: 2022-09-21)

[编辑: 焦 爽]