

基于荷瘤小鼠模型及生物信息学探讨 燥湿解毒复方对胰腺癌的影响

王小林^{1,2} 雷洋洋^{1,2} 李建柯^{1,2} 高珊珊^{1,2} 蔡定芳^{3△}

(¹复旦大学附属中山医院介入治疗科,³中医-中西医结合科 上海 200032;²上海市影像医学研究所 上海 200032)

【摘要】 目的 探讨燥湿解毒复方对小鼠胰腺癌细胞株皮下荷瘤生长的影响,并借助生物信息学判断该燥湿解毒复方治疗胰腺癌的潜在作用机制。**方法** 构建C57BL/6小鼠胰腺癌细胞株皮下荷瘤模型,将40只皮下荷瘤的小鼠随机分为高剂量给药组[27.82 g生药/(kg·d)],中等剂量给药组[13.91 g生药/(kg·d)],低剂量给药组[6.96 g生药/(kg·d)]以及正常对照组(给予磷酸盐缓冲液),每天灌胃1次,共21天。实验过程中观测小鼠体重变化以及荷瘤体积变化并绘制肿瘤生长曲线,实验结束后测量各组瘤体质量并计算抑瘤率。利用BATMAN-TCM、STRING、GEPIA 2数据库判断该燥湿解毒复方针对胰腺癌的潜在治疗靶点及相关生物学通路,探索靶点分子对胰腺癌患者生存期的影响。**结果** 高剂量给药组和中等剂量给药组的小鼠肿瘤生长曲线较为平稳,低剂量给药组和对照组小鼠的肿瘤生长曲线则相对陡直。实验结束后测量发现高剂量给药组及中等剂量给药组小鼠瘤体质量分别为(0.16±0.08) g及(0.18±0.06) g,明显低于对照组小鼠瘤体质量($P<0.05$)。高剂量给药组、中等剂量给药组及低剂量给药组抑瘤率分别为50.00%、43.75%和28.12%($P<0.05$)。基于生物信息学分析燥湿解毒复方针对胰腺癌的潜在治疗靶点包括淀粉样前体蛋白(amyloid beta precursor protein, APP)、Polo样激酶1(Polo like kinase 1, PLK1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPARG)、碳酸酐酶2(carbonic anhydrase 2, CA2)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、维甲酸受体 β (retinoic acid receptor beta, RARB)、神经降压素受体1(neurotensin receptor 1, NTSR1)和胸苷酸合成酶(thymidylate synthetase, TYMS)。这些靶点蛋白在人体内参与调节骨吸收、细胞对维生素A的反应、星形胶质细胞活化、对超氧阴离子的正向调节、苏氨酸磷酸化的调节、肝细胞再生、一碳代谢过程、RNA聚合酶II对pri-miRNA转录的调控、柱状上皮细胞的发育等生物学过程。进一步分析发现,EGFR和PLK1的表达水平与胰腺癌患者的预后存在相关性。**结论** 根据小鼠胰腺癌细胞株皮下荷瘤模型及生物信息学结果,该燥湿解毒复方能抑制胰腺癌生长。

【关键词】 燥湿解毒; 胰腺癌细胞株; 肿瘤生长曲线; 抑瘤率; 生物信息学

【中图分类号】 R273 **【文献标志码】** A **doi:**10.3969/j.issn.1672-8467.2022.06.011

Effect of the compound prescription of detoxication of dryness-dampness on pancreatic cancer based on tumor-bearing mouse model and bioinformatics

WANG Xiao-lin^{1,2}, LEI Yang-yang^{1,2}, LI Jian-ke^{1,2}, GAO Shan-shan^{1,2}, CAI Ding-fang^{3△}

(¹Department of Interventional Radiology, ³Department of Integrative Medicine, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China; ²Shanghai Institute of Medical Imaging, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of the compound prescription of detoxication of dryness-dampness on the growth of subcutaneous tumor-bearing mouse models with pancreatic cancer cell line, the potential molecular mechanisms by which the compound prescription of detoxication of dryness-

上海市慈善基金会荣昶专项基金(Q2015-024);复旦大学附属中山医院科技发展基金(2018ZSFZ005)

[△]Corresponding author E-mail:dingfangcai@163.com

网络首发时间:2022-05-27 15:30:22 网络首发地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.R.20220526.0932.002.html

dampness treated pancreatic cancer were analyzed by bioinformatics method. **Methods** The subcutaneous tumor-bearing models with pancreatic cancer cell line were established in C57BL/6 mice. The forty mice were randomly divided into high-dose [27.82 g crude drug/(kg·d)], medium-dose [13.91 g crude drug/(kg·d)], and low-dose [6.96 g crude drug/(kg·d)] groups, as well as control group (treated with phosphate buffered saline). Animals were administered with the Chinese traditional medicine or phosphate buffer solution PBS by gastrogavage, once daily, for 21 days. During the experiment, changes of body weight and tumor volume were observed, and the tumor growth curve was monitored. After the experiment, the tumor weight in each group was measured and the tumor inhibition rate was calculated. Subsequently, the BATMAN-TCM, STRING, and GEPIA 2 databases were utilized to select the potential therapeutic targets and related biological pathways of the compound prescription of detoxication of dryness-dampness for pancreatic cancer, and to explore the effect of target molecules on the survival of pancreatic cancer patients. **Results** The tumor volume growth curves of the mice with high- or medium-doses were relatively stable, while changed steeply in low-dose and control groups. Tumor weight levels of mice with high or medium-doses were (0.16 ± 0.08) g or (0.18 ± 0.06) g, respectively, which were significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). Further calculation showed that the tumor inhibition rates were 50.00%, 43.75% and 28.12% ($P < 0.05$) at high, medium, or low doses, respectively. Results of bioinformatics analysis showed that amyloid beta precursor protein (APP), Polo like kinase 1 (PLK1), peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARG), carbonic anhydrase 2 (CA2), epidermal growth factor receptor (EGFR), retinoic acid receptor beta (RARβ), neurotensin receptor 1 (NTSR1) and thymidylate synthetase (TYMS) were the key targets for pancreatic cancer in the compound prescription of detoxication of dryness-dampness. The biological functions of selected target genes in human body include positive regulation of bone resorption, response to vitamin A, astrocyte activation, positive regulation of superoxide anion generation, positive regulation of peptidyl-threonine phosphorylation, liver regeneration, one-carbon metabolic process, regulation of pri-miRNA transcription by RNA polymerase II, and development of columnar epithelial cells. Further analysis showed that the expressions of EGFR and PLK1 were correlated with the prognosis of patients with pancreatic cancer. **Conclusion** Based on the subcutaneous tumor-bearing mouse model with pancreatic cancer cell line and the bioinformatics analysis, we conjectured that the compound prescription of detoxication of dryness-dampness could inhibit the growth of pancreatic cancer.

【Key words】 detoxication of dryness-dampness; pancreatic cancer cell line; tumor growth curve; tumor inhibition rate; bioinformatics

* This work was supported by the Rong Chang Special Fund of Shanghai Charity Foundation (Q2015-024) and the Scientific Research and Development Fund from Zhongshan Hospital, Fudan University (2018ZSFZ005).

胰腺癌起病隐匿,是临床上最常见的恶性肿瘤之一,具有“癌症之王”的称号^[1]。由于胰腺癌病因复杂,诊断困难,确诊时只有10%~20%的患者能够进行手术切除^[2]。虽然近年来肿瘤患者的存活率有所提高,但胰腺癌患者的五年生存率仍维持在8%。目前胰腺癌一线治疗药物如吉西他滨常常会对患者产生毒副作用,导致患者产生耐药性,而其他治疗手段如根治性手术切除、放化疗等效果也不甚理想,因此寻找更有效的治疗方法十分重要。前

期有研究报道传统中药里含有大量生物活性成分,能够增强化疗药物的治疗效果,减少肿瘤患者治疗过程中的不良反应,减缓癌痛,从而提高生存质量^[3-4]。根据临床表现,中医辨证认为胰腺癌核心病机为湿热蕴毒,主要治疗原则为清热燥湿,解毒抑癌^[5]。目前关于胰腺癌的辨证分型尚无统一标准,不同的中医学专家利用辨证论治的思想以中焦脾虚作为胰腺癌内因,以其出现的毒热、湿阻、痰凝、气滞、血瘀等表象认为胰腺癌的临床表现与中焦

湿热毒邪相关,而湿热毒邪内蕴则是本病首要病机和发病的内在条件^[6]。本研究通过辨证论治以清热解毒、燥湿消结、祛邪抑癌原则为主,以清热解毒、燥湿抑癌中药组成治疗方剂。该治疗方剂包括黄连、苦参、山慈菇、青黛、姜黄、牛黄及雄黄。本实验拟观察燥湿解毒复方对小鼠胰腺癌细胞株皮下荷瘤生长的影响,并利用生物信息学数据库推断该燥湿解毒复方针对胰腺癌的潜在治疗靶点及相关生物学通路,为中医药治疗胰腺癌提供更多实验依据。

材 料 和 方 法

瘤株和实验动物 鼠源胰腺癌 Panc02 细胞株由复旦大学附属中山医院胰腺外科惠赠。6~7 周龄 C57BL/6 雄性小鼠共 40 只,购自上海杰司捷实验动物有限公司(实验动物合格证编号为 20180004024014)。实验小鼠饲养于复旦大学附属中山医院中心实验室无特殊病原体(specific pathogen free, SPF)环境中。该实验设计方案经复旦大学附属中山医院动物实验伦理委员会批准(批件号:2020-069)。小鼠由普通饲料喂养,保证自由进食,水源充足,光照时间为 12 h,饲养温度为 18~28 °C,日温差≤3 °C,相对湿度达 40%~70%。

主要试剂与耗材 RPMI-1640,胎牛血清,0.25% Trypsin-EDTA,无菌磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffered Saline, PBS, Gibco, pH 7.4),均购自美国 Gibco 公司;T25、T75 透气培养瓶(美国 Corning 公司);游标卡尺(得力集团有限公司)。

小鼠胰腺癌细胞株皮下荷瘤模型的建立 取对数生长期且生长状态良好的 Panc02 细胞,弃掉培养基后使用无菌 PBS 清洗,加入 0.25% 胰酶消化细胞。待显微镜下观察到细胞之间出现间隙后,使用含有 10% 胎牛血清的培养基终止消化后离心($r=17.9\text{ cm}$, $1\,000\text{ r/min}$, 5 min)。弃去上清液,用无菌 PBS 清洗一遍,最后用 PBS 重悬后将细胞置于冰上备用。使用 1 mL 微量注射器吸取细胞悬液 0.1 mL (2×10^6 个细胞)并缓慢注入小鼠背部皮下,注射后局部穿刺点按压 1 min 后观察有无渗漏。以上所有实验操作均在超净工作台内进行,实验过程严格遵照无菌要求。每日检查小鼠的一般状况,观察及触诊肿瘤的生长状况并做好瘤体质量的测量及记录。

中药复方汤剂制备 中药组合方剂包括黄连 30 g,苦参 20 g,山慈菇 20 g,青黛 10 g,姜黄 20 g,牛黄 5 g 以及雄黄 2 g,此治疗方剂以 70 kg/d 人体剂量为标准配置。将黄连 30 g、苦参 20 g、山慈菇 20 g、姜黄 20 g 研磨成粉末后装入煎药包中,放入陶瓷砂锅中浸泡 10 min 使药物完全被水渗透以便于有效成分的溶解。头煎时加入 700 mL 纯净水煎熬 30 min,两煎时加入 800 mL 纯净水煎熬 50 min 以便使药物之间充分作用,同时使药物中的有效成分能够彻底溶出从而增强疗效。然后用文火煎熬浓缩至 100 mL 后冷却并使用无菌纱布过滤药液,最后加入青黛 10 g、牛黄 5 g 和雄黄 2 g 充分搅拌均匀后分装至 50 mL 离心管(浓度:1.07 g/mL),置于 4 °C 冰箱保存。

胰腺癌皮下成瘤小鼠分组与给药 C57BL/6 雄性小鼠荷瘤 7 天后,根据人和小鼠体表面积等效剂量比值计算公式^[7],将小鼠随机分为 4 组,分别为高剂量给药组[27.82 g 生药/(kg·d)],中等剂量给药组[13.91 g 生药/(kg·d)],低剂量给药组[6.96 g 生药/(kg·d)]以及 PBS 对照组,每组 10 只。每日上午定时灌胃给药 1 次,共 21 天。

观察项目及计算方法 每日灌药前称量并记录小鼠体质量。测量荷瘤的长径(a)和短径(b),按照肿瘤体积计算公式 $V=(a\times b^2)/2$ 计算肿瘤体积,绘制肿瘤体积生长曲线^[8]。给药 21 天后处死小鼠取出肿瘤组织进行称量,并按以下公式计算肿瘤抑制率:肿瘤抑制率%=(对照组平均瘤重-给药组平均瘤重)/对照组平均瘤重 $\times 100\%$ 。当肿瘤抑制率 $>30\%$,且经统计学处理有明显差异者($P<0.05$)认为有抗肿瘤作用^[9]。

燥湿解毒复方活性成分与胰腺癌潜在靶点筛选 利用基于研究中药分子机制的在线生物信息学分析工具 BATMAN-TCM (a Bioinformatics Analysis Tool for Molecular mechANism of Traditional Chinese Medicine) (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>) 筛选复方针对胰腺癌的潜在靶点,探索中药-靶向途径/疾病关联网络和生物途径与突出的中药相关性靶标,探索配方分子生物学水平的治疗机制^[10]。

蛋白质互作网络及基因本体论富集分析 借助 STRING (<https://string-db.org/>) 在线数据库对靶点基因进行蛋白质互作网络(protein-protein

interaction network, PPI) 分析^[11]。筛选条件为 (1) Protein Name: 靶点蛋白; (2) Organism: Homo sapiens。每个节点(Node)代表不同的靶点,节点与节点之间的边(Edge)代表各靶点之间存在相互作用。根据程度值(Degree)由大到小的顺序进行靶点基因的基因本体论(Gene Ontology, GO)富集分析。GO 富集结果主要包括生物过程(biological process, BP),根据 *P* 值筛选出排名前十的生物学过程。

靶点基因在胰腺癌中的表达及对患者总生存期的影响 借助 GEPIA 2 (<http://gepia2.cancer-pku.cn/>) 数据库分析该复方中药内靶点基因在胰腺癌和癌旁组织中的差异表达^[12]。设定的筛选条件为: (1) Gene: 靶点基因; (2) Cancer name: PAAD (pancreatic adenocarcinoma); (3) |Log₂FC| Cutoff: 1; *P*-value Cutoff: 0.01。选择 log₂(TPM+1) 作为柱状图纵坐标。进一步借助 GEPIA 2 分析靶点基因与胰腺癌患者总生存期之间的关系,设定的条件参数为: (1) Gene: 靶点基因; (2) Methods: Overall Survival; (3) Group Cutoff: Median; Cutoff-High (%): 50; Cutoff-Low (%): 50; (4) Hazards Ratio: Yes; (5) Axis Units: Months。

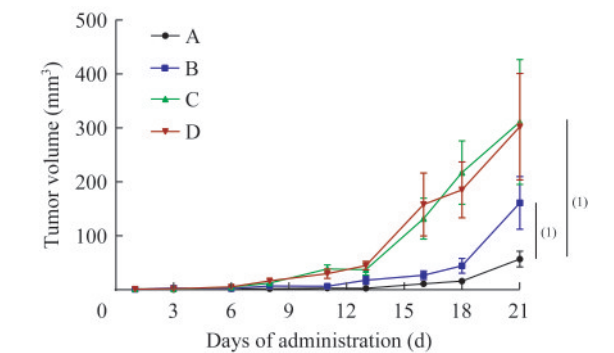
统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间差异检验采用 SPSS 22.0 统计软件进行单因素方差分析。靶点基因在胰腺癌组织和正常组织中的表达差异采用 *t* 检验,靶点基因与胰腺癌患者预后的关系采用 Kaplan-Meier 方法进行分析并采用 Log-Rank 进行检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

不同剂量治疗方剂对肿瘤生长曲线的影响

实验过程中荷瘤小鼠生长状态及精神状态良好,进食饮水正常。从给药第8天开始,各组小鼠肿瘤体积开始出现差异,中等剂量给药组以及高剂量给药组小鼠肿瘤体积生长曲线平稳但未停滞。低剂量

给药组和对照组小鼠肿瘤体积生长曲线陡直,生长速度较快并且生长趋势基本一致(图1)。



A: High-dose [27.82 g crude drug/(kg·d)] administration group; B: Medium-dose [13.91 g crude drug/(kg·d)] administration group; C: Low-dose [6.96 g crude drug/(kg·d)] administration group; D: Control (phosphate buffered saline) group.⁽¹⁾*P* < 0.05.

图1 不同剂量燥湿解毒复方对 C57BL/6 小鼠胰腺癌细胞株 Panc02 皮下荷瘤生长曲线的影响
Fig1 The effects of different doses of the compound prescription of detoxication of dryness-dampness on the growth curve of pancreatic cancer cell line Panc02 in C57BL/6 mice

不同浓度治疗方剂对荷瘤小鼠体质量以及抑瘤作用的影响 统计结果表明,给药前和给药21天后4组小鼠体质量差异均无统计学意义。但在给药过程中,高剂量给药组中部分小鼠在给药早期出现体质量下降,在给药中后期时体质量逐渐恢复,推测可能与该方剂中雄黄等成分的毒副作用相关,其机制仍需进一步探讨。抑瘤结果提示该治疗方剂的抗肿瘤作用具有明显的药物浓度依赖性,与对照组和低剂量组相比,高剂量组[27.82 g 生药/(kg·d)]与中等剂量组[13.91 生药/(kg·d)]的抗肿瘤作用较为明显,其抑瘤率分别为50.00%和43.75%(表1)。

该燥湿解毒复方治疗胰腺癌的潜在靶点 利用 BATMAN-TCM 数据库共检索出该燥湿解毒复方在胰腺癌治疗中的8个关键靶点蛋白,分别是 APP、PLK1、PPARG、CA2、EGFR、RARβ、

表1 各组小鼠抑瘤率比较

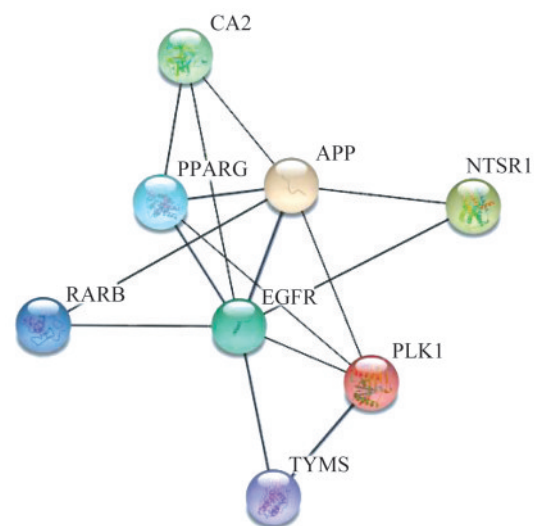
Tab 1 Comparison of tumor inhibition rate in each mice group									($\bar{x} \pm s$)
Group	Dosage [g crude drug/ (kg·d)]	The number of mice (<i>n</i>)		The weight of mice (g)		Tumor weight (g)	Tumor inhibition rate (%)	<i>t</i>	<i>P</i>
		Before experiment	After experimnt	Before experiment	After experimnt				
High-dose	27.82	10	6	25.04 ± 1.19	24.88 ± 1.85	0.16 ± 0.08	50.00	−3.875	0.002
Medium-dose	13.91	10	8	24.74 ± 1.33	24.38 ± 1.14	0.18 ± 0.06	43.75	−3.941	0.002
Low-dose	6.96	10	8	25.56 ± 1.28	25.49 ± 1.51	0.23 ± 0.04	28.12	−3.142	0.007
Control	—	10	8	25.75 ± 2.18	26.15 ± 3.80	0.32 ± 0.08	—		

NTSR1、TYMS。其中山慈菇在胰腺癌中的潜在靶点为 APP、PLK1、PPARG,青黛的潜在靶点为 CA2、EGFR,姜黄的潜在靶点为 CA2、PPARG、RARB,牛黄的潜在靶点为 EGFR、PPARG,黄连的潜在靶点为 EGFR,苦参的潜在靶点为 CA2、EGFR、NTSR1、RARB、TYMS,雄黄的潜在靶点为 TYMS。

PPI 网络及基因功能富集分析 利用 STRING 数据库对以上靶点进行 PPI 网络构建(图 2)。GO 分析显示该燥湿解毒复方治疗胰腺癌的潜在靶点在生物过程方面主要涉及调节骨吸收、细胞对维生素 A 的反应、星形胶质细胞活化、对超氧阴离子的正向调节、苏氨酸磷酸化的调节、肝细胞再生、一碳代谢过程、RNA 聚合酶 II 对 pri-miRNA 转录的调控和柱状上皮细胞的发育等(表 2)。

靶点基因在胰腺癌和正常胰腺组织中的表达差异 GEPIA 2 数据库包含 179 例胰腺癌组织和 171 例正常胰腺组织。数据分析显示 APP、PLK1、PPARG、CA2、EGFR、RARB、NTSR1、TYMS 在胰腺癌组织中均呈显著高表达,差异具有统计学意义(图 3, $P<0.05$)。

靶点基因表达对胰腺癌患者总生存率的影响 为进一步研究靶点基因表达水平与胰腺癌患者生存期的关系,我们利用 GEPIA 2 数据库生存分析功



CA2: Carbonic anhydrase 2; PPARG: Peroxisome proliferator activated receptor gamma; APP: Amyloid precursor protein; NTSR1: Neurotensin receptor 1; RARB: Retinoic acid receptor beta; EGFR: Epidermal growth factor receptor; PLK1: Polo like kinase 1; TYMS: Thymidylate synthetase.

图 2 基于 STRING 数据库构建靶点蛋白的蛋白-蛋白相互作用网络

Fig 2 Protein-protein interactions (PPI) of target proteins were constructed based on the STRING database

能发现 EGFR 和 PLK1 高表达组的患者生存率降低(图 4, $P<0.05$),提示 EGFR 和 PLK1 与胰腺癌患者预后存在相关性。

表 2 基于 STRING 数据库的靶点蛋白 GO 分析

Tab 2 The GO analyses of target proteins based on the STRING database

GO-term	Description	Gene	Strength	False discovery rate
GO:0045780	positive regulation of bone resorption	CA2, EGFR	2.41	0.021 8
GO:0033189	response to vitamin A	PPARG, TYMS	2.41	0.021 8
GO:0048143	astrocyte activation	APP, EGFR	2.39	0.021 8
GO:0032930	positive regulation of superoxide anion generation	APP, EGFR	2.39	0.021 8
GO:0010800	positive regulation of peptidyl-threonine phosphorylation	APP, PLK1	2.21	0.030 0
GO:0097421	liver regeneration	EGFR, TYMS	2.20	0.030 7
GO:0006730	one-carbon metabolic process	CA2, TYMS	2.10	0.037 3
GO:0031100	animal organ regeneration	PPARG, EGFR, TYMS	1.99	0.011 8
GO:1902893	regulation of pri-miRNA transcription by RNA polymerase II	APP, PPARG	1.97	0.047 1

GO: The Gene Ontology; CA2: Carbonic anhydrase 2; EGFR: Epidermal growth factor receptor; PPARG: Peroxisome proliferator activated receptor gamma; TYMS: Thymidylate synthetase; APP: Amyloid precursor protein; PLK1: Polo like kinase 1.

讨 论

胰腺癌发病率逐年升高,预计到 2030 年将成为全球第二大致死癌症。由于其发展快、病程短、易

转移,多数患者初诊时即伴有远处脏器的转移从而丧失了最佳治疗时机^[13-14]。在中医里,胰腺癌属“癥瘕”“脾癥”范畴,其核心病机为“湿热蕴毒”。该燥湿解毒复方针对胰腺癌核心病机以苦参、黄连、山慈菇、青黛、姜黄、牛黄、雄黄组成。方中苦参、黄连

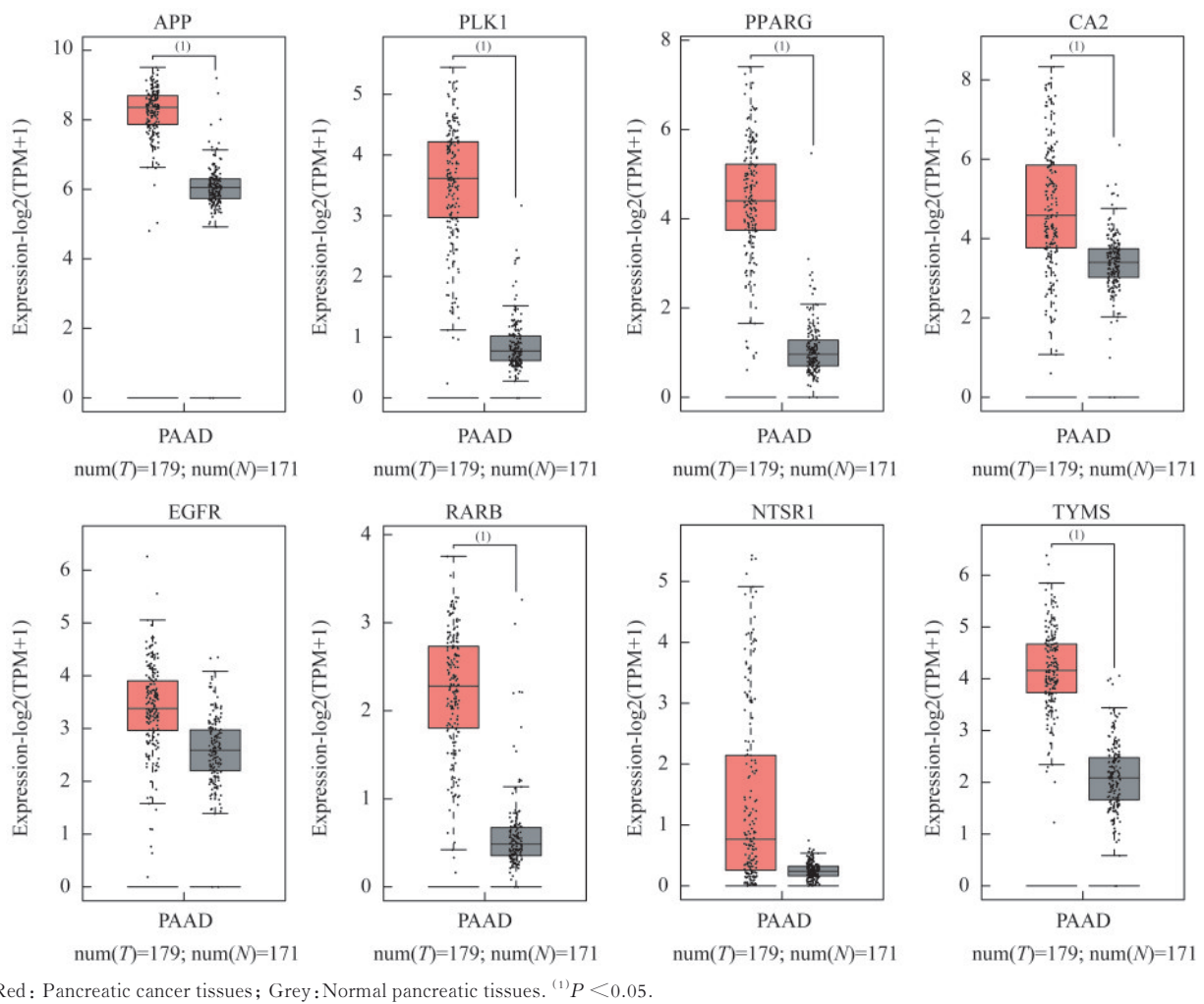


图3 靶点基因在胰腺癌与正常胰腺组织中的表达

Fig 3 The expression level of target genes in pancreatic cancer tissues in comparison to those in normal tissues

燥湿清热为君,牛黄、雄黄解毒清热为臣,山慈菇、青黛佐君药解毒,姜黄使臣药破瘀。中医药物学经典著作《神农本草经》记载:苦参味苦寒,主心腹结气,症瘕积聚,黄疸。黄连味苦寒,主热气。雄黄味苦平寒,主寒热,鼠痿恶创,疽痔死肌。牛黄味苦平,主惊痫,寒热,热盛狂症。李时珍《本草纲目》记载:姜黄辛苦大寒,无毒,主治癥瘕血块,心腹结积。《要药分剂》曰:青黛除热解毒,兼能凉血。《中药大辞典》谓山慈菇消肿散结,化痰解毒。现代研究表明用中医治疗胰腺癌能有效改善晚期胰腺癌患者的生存质量,提高患者的带瘤生存期^[15]。例如清胰化积方能够显著提高晚期胰腺癌患者的五年生存率以及中位生存期^[16],为胰腺癌从湿热解毒论治提供了更多科学依据。

本实验研究表明:与对照组比较,高剂量以及中等剂量的燥湿解毒复方均能够有效抑制胰腺癌

细胞皮下荷瘤小鼠的肿瘤生长,抑瘤率分别为50.00%和43.75%,抑瘤率呈剂量依赖关系。借助BATMAN-TCM在线数据库我们推测出该燥湿解毒复方治疗胰腺癌的潜在靶点蛋白包括APP、PLK1、PPARG、CA2、EGFR、RARB、NTSR1、TYMS。GO分析结果推测这些靶点在人体内参与的生物学过程可能包括调节骨吸收、细胞对维生素A的反应、星形胶质细胞活化、对超氧阴离子的正向调节、苏氨酸磷酸化的调节、肝细胞再生、一碳单位的代谢过程、RNA聚合酶Ⅱ对pri-miRNA转录的调控、柱状上皮细胞的发育等。以上大部分生物学过程在肿瘤细胞生长过程中都发挥重要作用^[17-19],靶向抑制这些生物学过程在癌症治疗中具有重要临床意义。

通过生物信息学数据库分析发现这些关键靶点基因在胰腺癌组织中的表达均显著上调,对这些

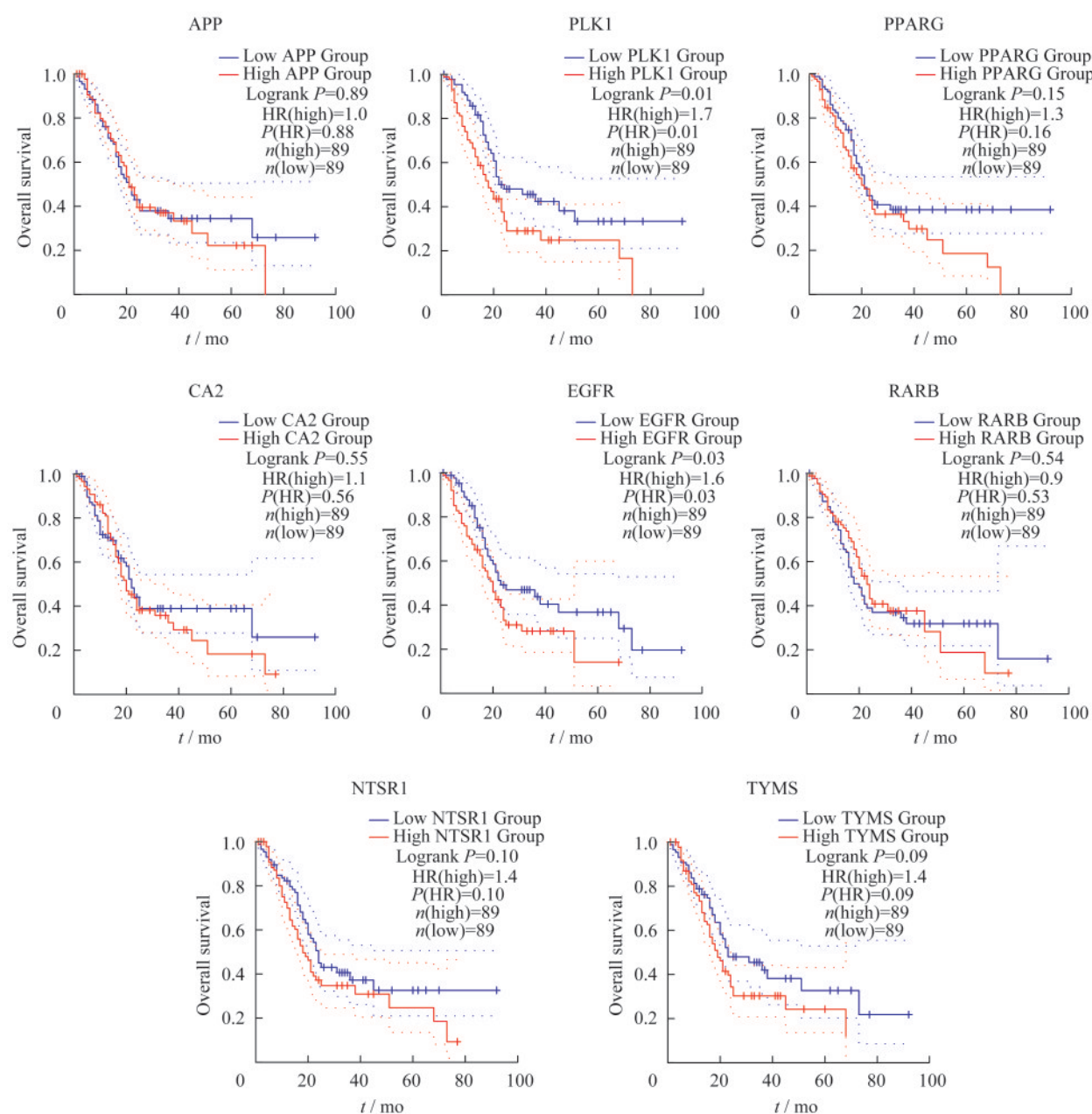


图4 靶点基因表达水平与胰腺癌患者总生存率的关系

Fig 4 The relationships between the target genes expressions and overall survival (OS) in patients with pancreatic cancer

关键靶点进行生存分析发现在胰腺癌患者中EGFR和PLK1高表达提示预后不良。EGFR已被证实与实体肿瘤的生长、分化与增殖相关。在胰腺癌患者中,EGFR与胰腺癌患者的分期、转移以及分化相关^[20]。PLK1是一种能够抑制肿瘤细胞凋亡、促进肿瘤细胞生长的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,抑制PLK1的表达能有效抑制肿瘤细胞的增殖^[21]。由于EGFR和PLK1与胰腺癌的发生发展密切相关,针对EGFR和PLK1的靶向治疗将为胰腺癌患者的早

期诊断、预后及治疗提供极大的帮助。

本研究基于动物实验及生物信息学结果推测该燥湿解毒复方在胰腺癌治疗方面具有较好的临床应用前景,但其确切作用机制仍有待进一步探讨。

作者贡献声明 王小林 论文构思、撰写和修订。雷洋洋 论文撰写,实验操作,数据采集和统计分析。李建柯,高珊珊 论文修订,实验操作,数据采集。蔡定芳 实验设计,论文修订。

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] AWAJI M, SINGH RK. Cancer-associated fibroblasts' functional heterogeneity in pancreatic ductal adenocarcinoma[J].*Cancers (Basel)*, 2019, 11(3):290.
- [2] STROBEL O, NEOPTOLEMOS J, JÄGER D, *et al.* Optimizing the outcomes of pancreatic cancer surgery[J].*Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(1):11-26.
- [3] GAO Y, CHEN S, SUN J, *et al.* Traditional Chinese medicine may be further explored as candidate drugs for pancreatic cancer: A review[J].*Phytother Res*, 2021, 35(2):603-628.
- [4] 王丽娟,路军章.中医药治疗胰腺癌的研究进展[J].*中华中医药杂志*, 2016, 31(3):961-964.
- [5] 徐燕立,刘鲁明,陈颢,等.刘鲁明教授治疗胰腺癌的学术思想和经验特色[J].*中华中医药学刊*, 2012, 30(12):2628-2630.
- [6] 金莉.胰腺癌中医治疗进展[J].*浙江中医杂志*, 2012, 47(11):855-857.
- [7] 徐叔云.药理学实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社, 2002:1861.
- [8] NAITO S, ESCHENBACH ACVON, GIAVAZZI R, *et al.* Growth and metastasis of tumor cells isolated from a human renal cell carcinoma implanted into different organs of nude mice[J].*Cancer Res*, 1986, 46(8):4109-4115.
- [9] 韩锐.抗癌药物研究与预防[M].北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1997:364-365.
- [10] LIU Z, GUO F, WANG Y, *et al.* BATMAN-TCM: a bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine[J].*Sci Rep*, 2016, 6:21146.
- [11] SZKLARCZYK D, GABLE AL, LYON D, *et al.* STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J].*Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1):D607-D613.
- [12] TANG Z, KANG B, LI C, *et al.* GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis[J].*Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1):W556-W560.
- [13] YANG J, REN B, YANG G, *et al.* The enhancement of glycolysis regulates pancreatic cancer metastasis[J].*Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(2):305-321.
- [14] SUNAMI Y, KLEEFF J. Immunotherapy of pancreatic cancer[J].*Prog Mol Biol Transl Sci*, 2019, 164:189-216.
- [15] 花永强,刘鲁明,陈震,等.胰腺癌中医证治理论体系的现代认识[J].*中国中西医结合杂志*, 2019, 39(1):107-110.
- [16] 王凤娇,陈联誉,陈震,等.概述清胰化积方抑制胰腺癌发生发展的现代研究机制[J].*上海中医药杂志*, 2017, 51(7):95-98.
- [17] ZHANG XK. Vitamin A and apoptosis in prostate cancer[J].*Endocr Relat Cancer*, 2002, 9(2):87-102.
- [18] TSUJIMOTO M, YOKOTA S, VILCEK J, *et al.* Tumor necrosis factor provokes superoxide anion generation from neutrophils[J].*Biochem Biophys Res Commun*, 1986, 137(3):1094-1100.
- [19] NEWMAN AC, MADDOCKS ODK. One-carbon metabolism in cancer[J].*Br J Cancer*, 2017, 116(12):1499-1504.
- [20] GUO M, LUO G, LIU C, *et al.* The prognostic and predictive role of epidermal growth factor receptor in surgical resected pancreatic cancer[J].*Int J Mol Sci*, 2016, 17(7):1090.
- [21] LEE J, LEE J, SIM W, *et al.* Differential dependency of human pancreatic cancer cells on targeting PTEN via PLK 1 expression[J].*Cancers (Basel)*, 2020, 12(2):277.

(收稿日期:2021-10-08; 编辑:张秀峰)