

基于网络药理学预测紫苏子-杏仁药对治疗支气管哮喘的作用机制

黄芳芳^{1#}, 吴锐剑^{1#}, 李晓玲², 林浩雯³, 邱琴¹, 林柏忻³, 黄宇戈⁴, 罗连响^{5*} (广东医科大学 1. 研究生院; 2. 实验动物中心; 3. 第一临床学院; 4. 附属医院; 5. 海洋医药研究院, 广东湛江 524023)

摘要: **目的** 基于网络药理学探讨紫苏子-杏仁药对治疗支气管哮喘的作用机制。**方法** 基于中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)收集紫苏子-杏仁药对的有效活性成分及其靶点信息。通过 Genecards 数据库获取哮喘相关基因, 并与经 STRING 数据库转换的紫苏子-杏仁药对的靶基因进行匹配, 得到紫苏子-杏仁药对治疗哮喘的候选作用靶点。利用 STRING 数据库和 Cytoscape 软件构建药物-有效活性成分-作用靶点网络和蛋白互作网络图, 并利用 DAVID 数据库对预测靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析。**结果** 筛选得到紫苏子中有效活性成分 14 个、杏仁中有效活性成分 15 个, 关键有效活性成分包括雌酮、木犀草素、 β -谷固醇等。去重后得到两者共有靶点 179 个, 关键靶点包括 TP53、AKT1、JUN、CDKN1A、VEGFA 等。GO 富集分析结果包括 GO-BP(生物过程)、GO-MF(分子功能)和 GO-CC(细胞组分)分析。KEGG 通路富集分析得到 7 条与哮喘显著相关通路。**结论** 紫苏子-杏仁药对主要通过 PI3K-Akt、TNF、P53 等信号通路发挥治疗哮喘作用。

关键词: 紫苏子; 杏仁; 网络药理学; 支气管哮喘

中图分类号: R 285.5

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)05-0550-08

Predictive mechanism of perilla seed-almond pairs on bronchial asthma by network pharmacology

HUANG Fang-fang^{1#}, WU Rui-jian^{1#}, LI Xiao-ling², LIN Hao-wen³, QIU Qin¹, LIN Bai-xin³, HUANG Yu-ge⁴, LUO Lian-xiang^{5*} (1. Graduate School; 2. Experimental Animal Center; 3. First Clinical College; 4. Affiliated Hospital; 5. Marine Biomedical Research Institute, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China)

Abstract: **Objective** To predict the mechanism of perilla seed-almond pairs (PSAPs) on bronchial asthma using network pharmacology. **Methods** The active components and target information of PSAPs were collected from Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). Asthma-related genes were obtained from Genecards database and matched with the target genes of PSAPs transformed by STRING database, and the candidate targets of PSAPs for asthma treatment were achieved. Target network and protein interaction network were constructed using STRING database and Cytoscape software. GO enrichment and KEGG pathway of predicted targets were analyzed using David Database. **Results** The active components were 14 in perilla seed and 15 in almond, of which estrone, luteolin, and β -sitosterol were crucial. After removing the duplicates, 179 targets were obtained, with key targets including TP53, AKT1, JUN, CDKN1A, VEGFA, etc. GO enrichment analysis showed biological process, molecular function and cell component. KEGG pathway enrichment analysis revealed 7 asthma-associated pathways. **Conclusion** PSAPs could treat bronchial asthma through PI3K/AKT, TNF and P53 pathways.

Key words: perilla seed; almond; network pharmacology; bronchial asthma

支气管哮喘(简称哮喘)是由多种细胞及细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病,伴有可变的气流受限和气道高反应性^[1]。据估计,全球约有 3 亿人患有哮

喘^[2]。糖皮质激素是目前控制哮喘气道炎症最有效的药物,慢性持续期哮喘以吸入为首选给药途径^[1,3],但由于吸入糖皮质激素治疗依从性差等原因,目前哮喘

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目(No.2019 A1515110201),广东省中医药局中医药科研项目(No.20201180),湛江市科技计划项目(No.2019A01009),广东医科大学博士科研启动项目(No.B2019016)

收稿日期: 2020-10-20; **修订日期:** 2021-02-10

作者简介: 黄芳芳(1996-),女,在读硕士研究生;吴锐剑(1995-),男,在读硕士研究生

通信作者: 罗连响(1985-),博士,讲师, E-mail: luolianxiang321@163.com

控制率仍较低。而且长期高剂量吸入糖皮质激素可出现全身不良反应(如肾上腺皮质轴抑制、骨质疏松等^[1]),因此急需寻求治疗哮喘的药物和方法。

中医药治疗哮喘已有悠久的历史,在治疗哮喘的经典名方(如定喘汤、麻杏石甘汤、麻黄汤等)中,紫苏子和杏仁常作为君药或臣药使用,两者均具有降气化痰、止咳平喘、润肠通便的功效^[4-5],可对哮喘的治疗起到一定的作用。目前有研究表明,紫苏子-杏仁药对是今方中治疗支气管哮喘支持度前十的高频药对^[6]。然而,现有关于紫苏子-杏仁药对的研究仍较少,对其作用机制的研究也局限于方剂或者单药,故紫苏子-杏仁药对治疗哮喘的作用机制尚未明了。作为一门新兴学科,网络药理学已被广泛用于研究中药治疗疾病潜在的分子机制。因此,本研究基于网络药理学初步探讨紫苏子-杏仁药对治疗哮喘的作用及机制,为紫苏子-杏仁药对治疗哮喘的研究方法提供新思路。

1 材料和方法

1.1 紫苏子-杏仁药对有效活性成分收集及靶点预测

采用TCMSP^[7]数据库(TCMSP 2.3, <http://tcmspw.com/tcmsp.php>, 中药系统药理学数据库和分析平台)检索紫苏子和杏仁的有效活性成分,以口服生物利用度(OB)>30%、类药性(DL)>0.18为筛选原则筛选出符合条件的有效活性成分,然后将其靶点输入STRING^[8]数据库(STRING 11.0, <https://string-db.org/>)中,把靶点名称(protein name)转换为基因名(gene name)。

1.2 紫苏子-杏仁药对治疗哮喘候选靶点的收集和筛选

在Genecards^[9]数据库(Genecards 4.12, <https://www.genecards.org/>)的关键词搜索功能中输入Asthma,选择疾病相关Genes,与上述经STRING转换的靶点基因名进行匹配,得到紫苏子-杏仁药对的候选作用靶点。然后在STRING数据库的Multiple proteins搜索功能中输入候选作用靶点名称,根据得到的蛋白相互作用网络的复杂程度调整Settings中的“minimum required interaction score”,保证网络的可读性。最后把获得的蛋白互作网络保存为TSV格式。

1.3 网络构建及分析

从STRING数据库中导出蛋白互作网络文件中的node1、node2进行整合去重,得到的基因靶点及其所属有效活性成分,把有效活性成分所属的药物信息导入Cytoscape(Cytoscape 3.7.2)软件中构建“药物-有

效活性成分-作用靶点”网络。然后把STRING蛋白互作网络文件中的node1、node2和combined score另外导入Cytoscape软件中得到初始蛋白相互作用网络,用工具Network Analyzer对该网络进行拓扑分析,主要根据结果中的自由度(Degree)值的大小筛选出核心靶点,最后构建核心靶点的蛋白互作网络图。

1.4 GO富集分析和KEGG通路富集分析

利用DAVID^[10]数据库(DAVID 6.8, <https://david.ncifcrf.gov/>)对紫苏子-杏仁药对作用于哮喘的预测靶点进行GO富集分析和KEGG通路富集分析,以 $P < 0.05$ 为截点,获得显著富集的信号通路。

2 结果

2.1 紫苏子-杏仁药对的有效活性成分及其预测靶点信息

将紫苏子和杏仁输入TCMSP数据库进行分析,以OB>30%和DL>0.18作为条件,筛选得到紫苏子中有效活性成分16个,杏仁中有效活性成分17个,其中4个有效活性成分无靶点。进一步筛选后得到紫苏子中有效活性成分14个,杏仁中有效活性成分15个,共461个靶点,重复靶点只保留1个,去重后两者共有靶点为179个(见表1)。把靶点输入STRING数据库,限定研究物种为“Homo sapiens (Human)”,使靶点得以成功转换。通过与Genecards数据库中与Asthma相关的基因进行比对,筛选得出135个候选靶点与该疾病有关。

2.2 紫苏子-杏仁药对治疗支气管哮喘核心靶点的筛选

将上述得到的135个靶点输入STRING数据库,设定研究物种为“Homo sapiens”,得到初始蛋白质互作关系,将此数据和相关活性成分的信息导入Cytoscape软件中构建“药物-活性成分-靶点”网络,见图1。进一步设置“minimum required interaction score”为0.97,可筛选得到72个靶点及其参与的蛋白质互作关系,把72个靶点及其关联的“combined score”另外导入Cytoscape软件中得到初始蛋白相互作用网络,用NetworkAnalyzer对其进行分析,构建出核心靶点的蛋白互作网络,见图2。

2.3 网络分析

图1为“紫苏子杏仁—活性成分-作用靶点”网络,其中共有167个节点,464条边,节点代表活性成分或作用靶点(绿色菱形节点代表紫苏子和杏仁活性成分,黄色菱形节点代表紫苏子和杏仁的共有活性成分,粉色椭圆节点代表作用靶点),蓝色边代表活性成

表1 紫苏子-杏仁药对中有效活性成分及其OB和DL值

编号	候选化合物	OB/%	DL	靶点数目	药材归属
1	CLR	37.87	0.68	3	紫苏子
2	gondoic acid	30.7	0.2	2	紫苏子
3	Spinasterol	42.98	0.76	3	紫苏子
4	Stigmasterol	43.83	0.76	28	紫苏子
5	beta-sitosterol	36.91	0.75	35	紫苏子
6	(E)-(4-methylbenzylidene)-(4-phenyltri- azol-1-yl)amine	57.87	0.19	1	紫苏子
7	campest-5-en-3beta-ol	37.58	0.71	1	紫苏子
8	Obtusifoliol	42.55	0.76	3	紫苏子
9	24-methylidenelophenol	44.19	0.75	1	紫苏子
10	citrostadienol	43.28	0.79	1	紫苏子
11	luteolin	36.16	0.25	55	紫苏子
12	Arachidonic acid	45.57	0.76	37	紫苏子
13	2,6,10,14,18-pentamethylicosa-2,6,10,14, 18-pentaene	33.4	0.24	1	紫苏子
14	beta-carotene	37.18	0.58	21	紫苏子
15	estrone	53.56	0.32	105	杏仁
16	11,14-eicosadienoic acid	39.99	0.2	1	杏仁
17	Glabridin	53.25	0.47	22	杏仁
18	Phaseol	78.77	0.58	12	杏仁
19	sitosterol	36.91	0.75	3	杏仁
20	Stigmasterol	43.83	0.76	27	杏仁
21	gondoic acid	30.7	0.2	2	杏仁
22	CLR	37.87	0.68	3	杏仁
23	Mairin	55.38	0.78	1	杏仁
24	(+)-catechin	54.83	0.24	10	杏仁
25	Glycyrol	90.78	0.67	10	杏仁
26	Machiline	79.64	0.24	21	杏仁
27	l-SPD	87.35	0.54	29	杏仁
28	Licochalcone B	76.76	0.19	17	杏仁
29	liquiritin	65.69	0.74	6	杏仁

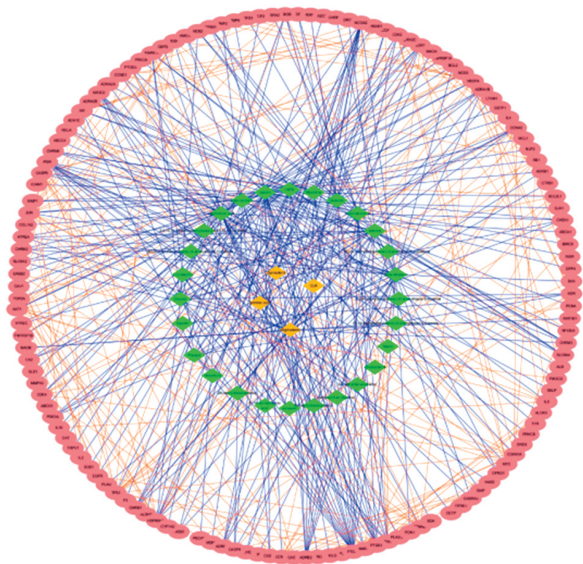


图1 “药物-活性成分-靶点”网络

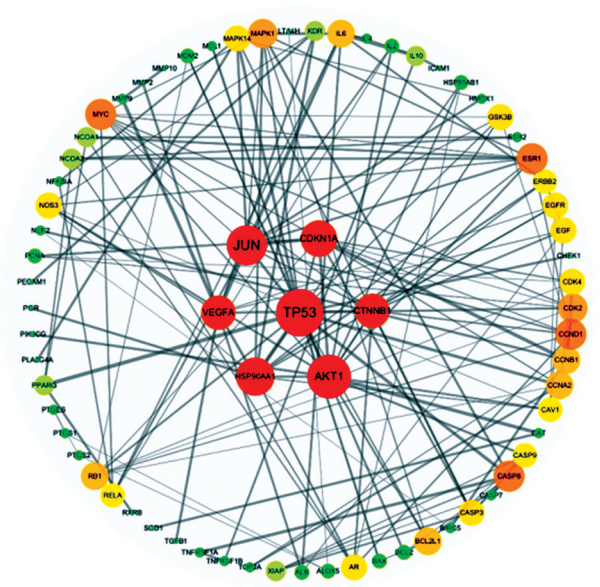


图2 紫苏子-杏仁药对核心靶点的蛋白互作网络

分和作用靶点间的相互关系(共293条),橙色边代表靶点之间的相互作用关系(共171条)。图2为核心靶点的蛋白相互作用网络,节点代表蛋白,边代表蛋白

间的相互关系,共涉及72个节点,171条边。节点的大小代表Degree值的大小,颜色深浅代表directed Edges值的大小。节点越大代表Degree值越大,颜色由绿变红对应的directed Edges值越大。边的粗细代表Edge Betweenness值的大小,边越粗Betweenness值越大。

2.4 GO富集分析和KEGG通路富集分析

2.4.1 GO富集分析 将筛选后的72个靶点蛋白导入DAVID数据库中进行GO富集分析,结果包括GO-BP(生物过程)、GO-MF(分子功能)和GO-CC(细胞组分)分析。GO-BP富集结果共有426个条目,根据显著性前10的富集结果作图,见图3,包括:凋亡过程的负调控、对药物的反应、RNA聚合酶II启动子转录的正调控、对雌二醇的反应、缺乏配体的外在凋亡信号通路、转录的正调控,DNA模板、肝再生、对抗生素

的反应、成纤维细胞增殖的正调控以及细胞增殖的正调控。GO-MF富集结果共有121个条目,根据显著性前10的富集结果作图,见图4,包括:酶结合、蛋白质均二聚活性、药物结合、相同的蛋白质结合、蛋白质异二聚活性、肾上腺素结合、蛋白质结合、一氧化氮合酶调节剂活性、转录因子结合、BH3域绑定。GO-CC富集结果共有55个条目,根据显著性前10的富集结果作图,见图5,包括:核、核质、胞质溶胶、蛋白质复合物、细胞质、细胞外空间、膜筏、线粒体、细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物、细胞质核周区域。见表2。

2.4.2 KEGG通路富集分析 用DAVID数据库进行KEGG通路富集分析,共得到99条信号通路,经筛选后得到相关通路55条,并以气泡图的形式直观表示这些通路,见图6。气泡图中节点的颜色代表P值的

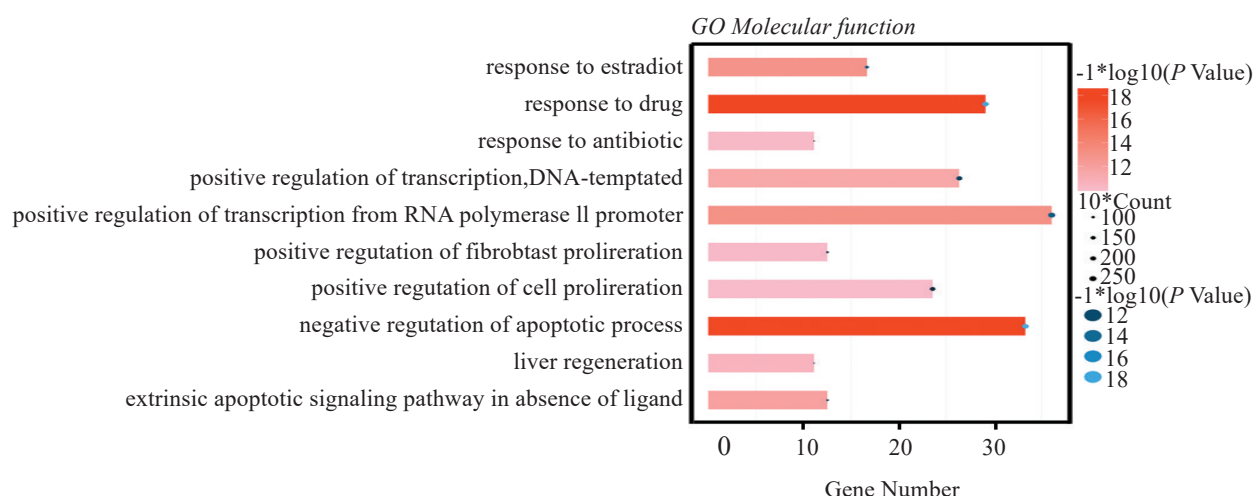


图3 GO富集分析的生物过程

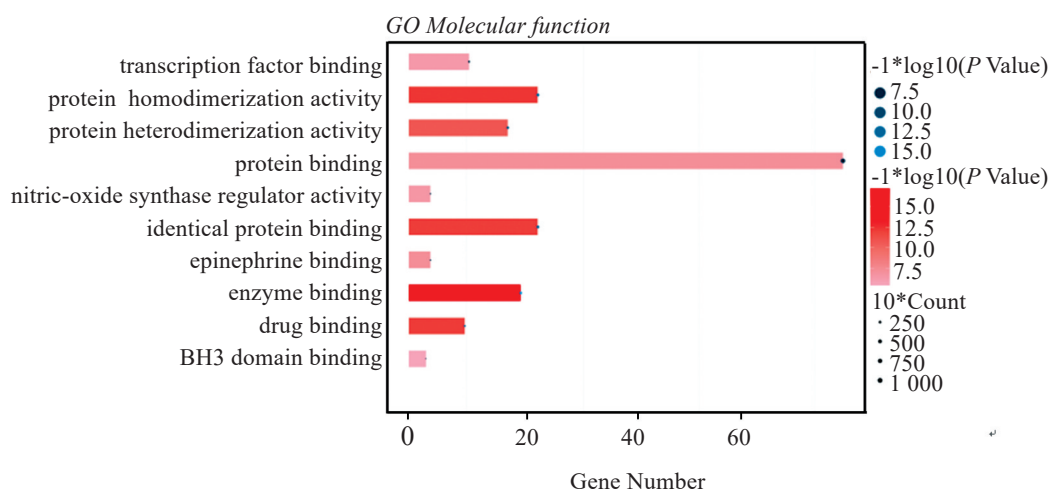


图4 GO富集分析的分子功能

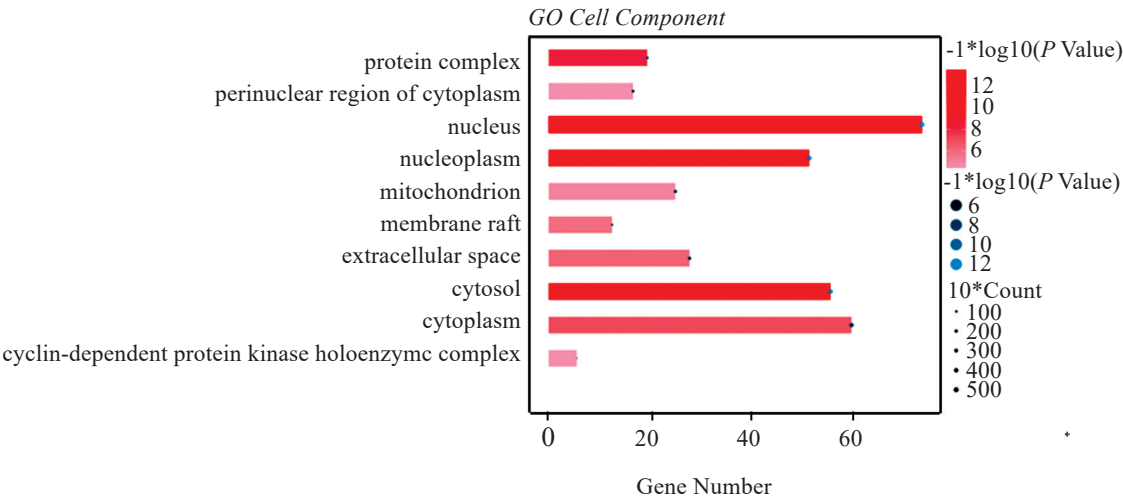


图5 GO富集分析的细胞组分

表2 GO富集分析结果

类别	基因功能	基因数/个	P值
BP	negative regulation of apoptotic process(凋亡过程的负调控)	24	3.95E-19
BP	response to drug(对药物的反应)	21	7.19E-19
BP	positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter(RNA聚合酶II启动子转录的正调控)	26	8.14E-14
BP	response to estradiol(对雌二醇的反应)	12	1.25E-13
BP	extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand(缺乏配体的外在凋亡信号通路)	9	1.13E-12
BP	positive regulation of transcription, DNA-templated(转录的正调控,DNA模板)	19	2.96E-12
BP	liver regeneration(肝再生)	8	2.59E-11
BP	response to antibiotic(对抗生素的反应)	8	5.52E-11
BP	positive regulation of fibroblast proliferation(成纤维细胞增殖的正调控)	9	6.06E-11
BP	positive regulation of cell proliferation(细胞增殖的正调控)	17	7.55E-11
MF	enzyme binding(酶结合)	26	1.14E-17
MF	protein homodimerization activity(蛋白质均二聚活性)	30	4.51E-13
MF	drug binding(药物结合)	13	7.64E-13
MF	identical protein binding(相同的蛋白质结合)	30	8.56E-13
MF	protein heterodimerization activity(蛋白质异二聚活性)	23	1.52E-11
MF	epinephrine binding(肾上腺素结合)	5	5.62E-08
MF	protein binding(蛋白质结合)	101	6.14E-08
MF	nitric-oxide synthase regulator activity(一氧化氮合酶调节剂活性)	5	2.59E-07
MF	transcription factor binding(转录因子结合)	14	4.23E-07
MF	BH3 domain binding(BH3域绑定)	4	1.95E-06
CC	nucleus(核)	53	4.35E-14
CC	nucleoplasm(核质)	37	2.97E-12
CC	cytosol(胞质溶胶)	40	3.75E-12
CC	protein complex(蛋白质复合物)	14	5.91E-09
CC	cytoplasm(细胞质)	43	7.80E-08
CC	extracellular space(细胞外空间)	20	5.99E-07
CC	membrane raft(膜筏)	9	1.34E-06
CC	mitochondrion(线粒体)	18	1.02E-05
CC	cyclin-dependent protein kinase holoenzyme complex(细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物)	4	2.49E-05
CC	perinuclear region of cytoplasm(细胞质核周区域)	12	2.63E-05

大小,颜色从红色到黄色反映 P 值从小到大;节点的大小代表相关基因的数量,节点从小到大反映相关基因的数量从少到多。其中,与哮喘显著相关的通路主要有7条,包括PI3K-Akt信号通路、TNF信号通路、FoxO信号通路、P53信号通路、HIF-1信号通路、T细胞受体信号通路以及VEGF信号通路,见表3。

3 讨论

中药具有多成分、多靶点、多途径协同作用的特性,而网络药理学具有与中医相似的整体哲学,其在基于“疾病-基因-靶点-药物”相互作用网络的基础上,通过分析现有数据库的信息资料,利用专业网络分析软件和算法,系统的、整体的从网络角度去描述

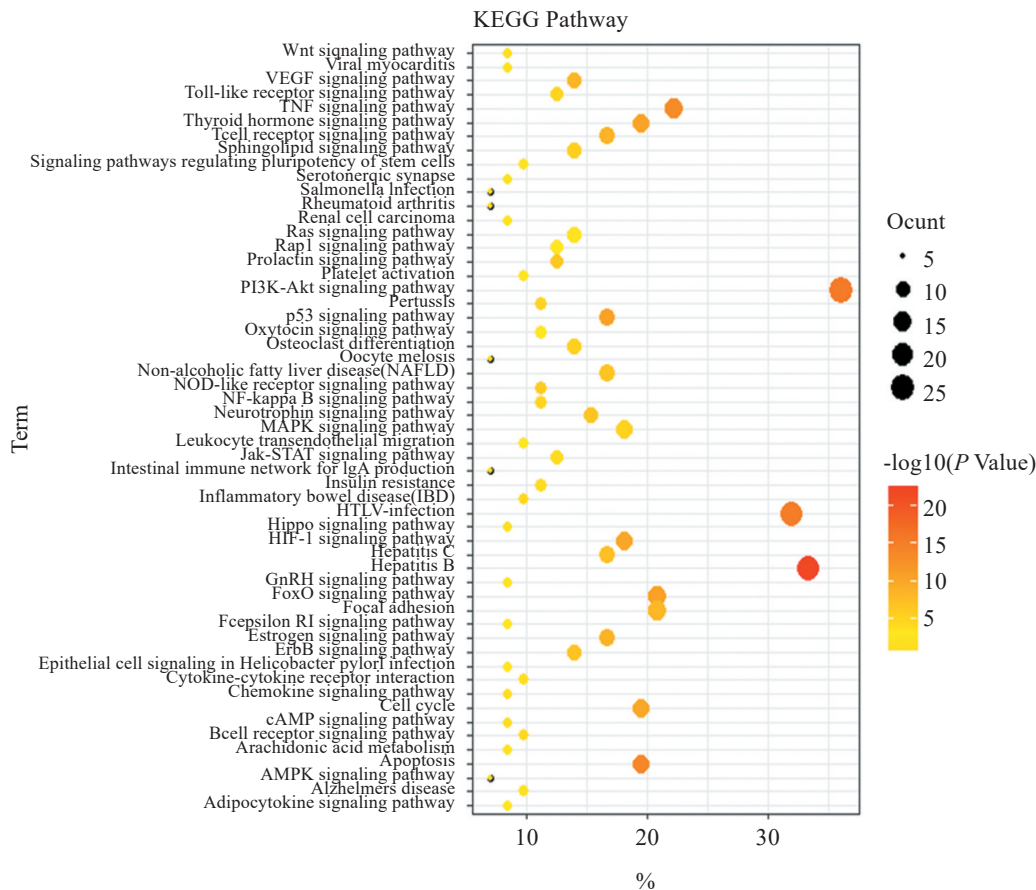


图6 KEGG通路富集图

表3 KEGG通路富集分析中与哮喘显著相关的通路

信号通路	基因数/个	P值	基因
PI3K-Akt signaling pathway(PI3K-Akt信号通路)	26	3.08E-16	EGFR, PIK3CG, IL4, HSP90AB1, IL6, HSP90AA1, MCL1, RELA, TP53, BCL2L1, CDK4, CDK2, KDR, AKT1, MAPK1, CCND1, CDKN1A, CASP9, GSK3B, BCL2, VEGFA, MDM2, NOS3, EGF, MYC, IL2
TNF signaling pathway(TNF信号通路)	16	4.91E-14	PIK3CG, ICAM1, IL6, PTGS2, RELA, MMP9, NFKBIA, AKT1, MAPK1, TNFRSF1A, TNFRSF1B, CASP3, CASP7, JUN, MAPK14, CASP8
FoxO signaling pathway(FoxO信号通路)	15	2.32E-11	PIK3CG, EGFR, IL6, IL10, CDK2, TGFB1, AKT1, CCNB1, MAPK1, CDKN1A, CCND1, MAPK14, MDM2, CAT, EGF
p53 signaling pathway(p53信号通路)	12	2.67E-11	CCNB1, CDKN1A, CASP3, CCND1, CASP9, BAX, CASP8, TP53, MDM2, CHEK1, CDK4, CDK2
HIF-1 signaling pathway(HIF-1信号通路)	13	8.63E-11	PIK3CG, EGFR, IL6, ERBB2, RELA, AKT1, MAPK1, CDKN1A, HMOX1, BCL2, VEGFA, NOS3, EGF
T cell receptor signaling pathway(TCR信号通路)	12	2.30E-09	PIK3CG, IL4, AKT1, MAPK1, MAPK14, RELA, JUN, GSK3B, NFKBIA, CDK4, IL10, IL2
VEGF signaling pathway(VEGF信号通路)	10	5.27E-09	PIK3CG, AKT1, MAPK1, PLA2G4A, CASP9, PTGS2, MAPK14, VEGFA, NOS3, KDR

生物系统,药物和疾病之间的复杂性,对于探索药物-疾病之间的关联,发现药物靶标,明确药物治疗疾病的机制具有重要指导价值^[11-12]。紫苏子和杏仁作为我国传统中药,均具有止咳平喘、润肠通便的功效,是治疗哮喘的常用中药。因此,本研究以两者的配伍为研究对象,运用网络药理学初步探讨其治疗支气管哮喘的作用机制,为后续实验研究提供理论依据。

“药物-活性成分-靶点”网络显示,雌酮、木犀草素、花生四烯酸、 β -谷固醇、豆甾醇的靶点数较多,为紫苏子-杏仁药对治疗哮喘的关键有效活性成分。有研究表明,木犀草素能有效地降低卵清蛋白(OVA)致敏小鼠的支气管收缩和气道高反应性^[13]。 β -谷固醇可使OVA致敏小鼠或豚鼠支气管肺泡灌洗液中白细胞和嗜酸性粒细胞减少,减轻气道炎症,并能减轻肺组织炎症细胞浸润,减少气道重塑过程中杯状细胞增生和黏液产生^[14-15]。豆甾醇能显著降低OVA致敏豚鼠血液中嗜酸性粒细胞的数量以及血清OVA特异性免疫球蛋白E(OVA sIgE)的水平,并能逆转炎症细胞在肺组织的浸润^[16]。综上所述,紫苏子-杏仁药对可能通过减轻气道炎症,抑制气道重塑,降低气道高反应性来发挥治疗哮喘的作用。

KEGG通路富集分析发现,主要有7条通路与哮喘显著相关。PI3K-Akt信号通路是本次富集结果中最显著富集的通路。有研究表明,PI3K-Akt信号通路在哮喘气道重塑中起着关键作用^[17],通过抑制PI3K/AKT信号通路可抑制气道上皮细胞的上皮-间质转化(EMT),从而抑制气道重塑^[18]。PI3K/Akt还可通过调节由HIF-1 α 活性介导的VEGF表达来调节气道炎症和气道高反应性,有研究表明,可通过抑制PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 α /VEGF通路来减轻过敏性气道炎症^[19-20]。此外,TNF、p53、TCR、VEGF等信号通路也在哮喘的发生发展中起重要作用。TNF信号通路与气道炎症有关,TNF-TNFR2信号的激活可通过抑制Th2和Th17细胞分化而减轻气道炎症^[21]。气道上皮细胞中整合素 β 4(ITGB4)缺乏可通过激活p53途径诱导气道上皮细胞衰老,影响哮喘的发生和发展^[22-23]。TCR信号通路与T辅助细胞分化有关,其信号传导的强度是决定Th1和Th2 CD4⁺T细胞分化的重要因素^[24]。VEGF信号通路在气道血管生成中起重要作用,气道血管生成可提示哮喘中发生的特定血管结构重塑。研究表明,信号转导和转录激活因子3(STAT3)可通过激活VEGF信号传导来介导气道平滑肌(ASM)细胞的促进血管生成的能力^[25]。

综上,本研究通过网络药理学预测,发现紫苏子-

杏仁药对可通过多成分、多靶点、多通路治疗哮喘,但由于本研究主要依托数据库信息,需通过实验研究对结果进行进一步深入验证。

参考文献:

- [1] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(2016年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(9):675-697.
- [2] MASOLI M, FABIAN D, HOLT S, et al. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report[J]. Allergy, 2004, 59(5):469-478.
- [3] BATEMAN E D, HURD S S, BARNES P J, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary[J]. Eur Respir J, 2008, 31(1):143-178.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2015年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2015, 338.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2015年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2015: 201.
- [6] 张欢, 范欣生, 王崇骏, 等. 古今哮喘方用药规律对比的关联规则研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(3):94-96.
- [7] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, 6:13.
- [8] SZKLARCZYK D, GABLE A L, 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.
- [9] STELZER G, ROSEN N, PLASCHKES I, et al. The genecards suite: From gene data mining to disease genome sequence analyses[J]. Curr Protoc Bioinformatics, 2016, 54:1-30.
- [10] HUANG D W, SHERMAN B T, LEMPICKI R A. Bioinformatics enrichment tools: Paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists[J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(1):1-13.
- [11] ZHANG R, ZHU X, BAI H, et al. Network pharmacology databases for traditional chinese medicine:review and assessment[J]. Front Pharmacol, 2019, 10:123.
- [12] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学:中医药现代化的新机遇[J]. 药学学报, 2012, 47(6):696-703.
- [13] DAS M, RAM A, GHOSH B. Luteolin alleviates bronchoconstriction and airway hyperreactivity in ovalbumin sensitized mice[J]. Inflamm Res, 2003, 52(3):101-106.
- [14] YUK J E, WOO J S, YUN C Y, et al. Effects of lactose-beta-sitosterol and beta-sitosterol on ovalbumin-induced lung inflammation in actively sensitized mice[J]. Int Immunopharmacol, 2007, 7(12):1517-1527.
- [15] MAHAJAN S G, MEHTA A A. Suppression of ovalbumin-induced Th2-driven airway inflammation by β -sitosterol in a

- guinea pig model of asthma[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 650(1):458-464.
- [16] ANTWI A O, OBIRI D D, OSAFO N. Stigmasterol modulates allergic airway inflammation in guinea pig model of ovalbumin-induced asthma[J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017:2953930.
- [17] 吕伟伟, 郑锐, 谭明旗. PI3K/Akt信号通路在哮喘气道重塑中的研究进展[J]. *医学综述*, 2018, 24(15):2961-2965.
- [18] YANG N, ZHANG H, CAI X, et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibits inflammation and epithelial-mesenchymal transition through the PI3K/AKT pathway via upregulation of PTEN in asthma[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(2): 818-828.
- [19] KIM S R, LEE K S, PARK H S, et al. HIF-1 α inhibition ameliorates an allergic airway disease via VEGF suppression in bronchial epithelium[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(10):2858-2869.
- [20] CHOI Y H, JIN G Y, LI L C, et al. Inhibition of protein kinase C delta attenuates allergic airway inflammation through suppression of PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 α /VEGF pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e81773.
- [21] PENG J, LI X M, ZHANG G R, et al. TNF-TNFR2 signaling inhibits Th2 and Th17 polarization and alleviates allergic airway inflammation[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2019, 178(3):281-290.
- [22] YUAN L, DU X, TANG S, et al. ITGB4 deficiency induces senescence of airway epithelial cells through p53 activation[J]. *FEBS J*, 2019, 286(6):1191-1203.
- [23] LAMBRECHT B N, HAMMAD H. The airway epithelium in asthma[J]. *Nat Med*, 2012, 18(5):684-692.
- [24] TAO X, CONSTANT S, JORRITSMA P, et al. Strength of TCR signal determines the costimulatory requirements for Th1 and Th2 CD4+T cell differentiation[J]. *J Immunol*, 1997, 159(12):5956-5963.
- [25] LV J, SUN B, MAI Z, et al. STAT3 potentiates the ability of airway smooth muscle cells to promote angiogenesis by regulating VEGF signalling[J]. *Exp Physiol*, 2017, 102(5): 598-606.

微卫星状态与结直肠癌临床病理特征、外周血T细胞及基因突变的关系

钟国方, 张 航, 袁 霞* (惠州市中心人民医院肿瘤内科, 广东惠州 516000)

摘要: 目的 了解微卫星状态与结直肠癌临床病理特征、外周血T淋巴细胞及基因突变的关系。方法 180例结直肠癌患者采用多重荧光PCR毛细管电泳法检测微卫星状态, 免疫芯片法检测外周血T淋巴细胞, 高通量测序方法检测基因突变状态, 分析微卫星状态与结直肠癌临床病理特征、外周血T淋巴细胞及基因突变的关系。结果 微卫星高度不稳定(MSI-H)患者<60岁、结肠癌、低分化型、PIK3CA突变、CD3⁺ $\geq$ 1 372个/ μ L、CD4⁺ $\geq$ 766个/ μ L、CD8⁺ $\geq$ 438个/ μ L均高于微卫星稳定(MSS)/微卫星低度不稳定(MSI-L)者($P<0.01$ 或 0.05)。结论 结直肠癌患者微卫星状态与年龄、发病部位、分化程度、外周血T淋巴细胞、PIK3CA基因突变密切相关。

关键词: 结直肠癌; 微卫星不稳定; T淋巴细胞; 基因突变

中图分类号: R 735.3

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)05-0557-05

Relationship between microsatellite status and clinicopathological features, peripheral blood T cells and gene mutations in colorectal cancer

ZHONG Guo-fang, ZHANG Hang, YUAN Xia* (Department of Oncology, Huizhou Central People's Hospital, Huizhou 516000, China)

Abstract: Objective To study the relationship between microsatellite status and clinicopathological characteristics, peripheral blood T cells and gene mutations in colorectal cancer (CRC). Methods The microsatellite status, peripheral blood T cells and gene mutations of 180 CRC patients were determined by multiple fluorescent PCR with capillary

基金项目: 惠州市科技局重大项目(No. 2016C0405020)

收稿日期: 2020-11-15; 修订日期: 2021-05-21

作者简介: 钟国方(1996-), 男, 硕士, 主治医师

通信作者: 袁 霞, 女, 博士, 主任医师, E-mail: yuanxia71@hotmail.com