



Original Article / 원저

암치료를 위한 네트워크 기반 접근방식 활용 시스템 수준 연구

이원용*

가천대학교 한의과대학

Investigating herbal active ingredients and systems-level mechanisms on the human cancers

Won-Yung Lee*

School of Korean Medicine, Gachon University

ABSTRACT

Objective : This study aims to investigate the active ingredients and potential mechanisms of the beneficial herb on human cancers such as the liver by employing network pharmacology.

Methods : Ingredients and their target information was obtained from various databases such as TM-MC, TTD, and Drugbank. Related protein for liver cancer was retrieved from the Comparative Toxicogenomics Database and literature. A hypergeometric test and gene set enrichment analysis were conducted to evaluate associations between protein targets of red ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) and liver cancer-related proteins and identify related signaling pathways, respectively. Network proximity was employed to identify active ingredients of red ginseng on liver cancer.

Results : A compound-target network of red ginseng was constructed, which consisted of 363 edges between 53 ingredients and 121 protein targets. MAPK signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, p53 signaling pathway, TGF-beta signaling pathway, and cell cycle pathway was significantly associated with protein targets of red ginseng. Network proximity results indicated that Ginsenoside Rg1, Acetic Acid, Ginsenoside Rh2, 20(R)-Ginsenoside Rg3, Notoginsenoside R1, Ginsenoside Rk1, 2-Methylfuran, Hexanal, Ginsenoside Rd, Ginsenoside Rh1 could be active ingredients of red ginseng against liver cancer.

Conclusion : This study suggests that network-based approaches could be useful to explore potential mechanisms and active ingredients of red ginseng for liver cancer.

Key words : network pharmacology, processed ginseng, liver cancer.

I. 서론

간세포암종 (liver cancer or hepatocellular carcinoma, HCC)는 만성 간질환 및 간경변증 환자에서 가장 흔히 나타나는 종양 중 하나이다. 간세포암종은 높은 재발율과 화학요법에 대한 내성으로 인해 예후가 불량한 것으로 알려져 있으며, 간 이식이 최선의 치료방법으로 알려져 있다¹⁾. 간 이식은 종양 뿐 만 아니라 만성적인 염증으로 인해 손상된 간 조직을 제거할 수 있는 장점이 있지만, 거부반응에 대한 문제와 합병증의 위험이 보고된 바 있다²⁾. 따라서, 간세포암종의 재발 및 이차종양을 예방하고 임상 예후를 향상시킬 수 있는 비침습적인 치료방식의 개발이 필요하다.

홍삼은 인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer)을 수증기 또는 기타 방식으로 찌서 익혀 건조한 것이며, 전분 입자의 호화 및 효소의 불활성화로 인해 인삼대비 소화율이 높고 저장성이 양호한 것으로 알려져 있다³⁾. 최근 홍삼 및 홍삼 성분을 활용하여 간세포암종에 활용할 수 있는 가능성을 제시하는 연구들이 수행되고 있다. 예를 들어, 오 등⁴⁾은 발효한 홍삼이 간암세포주 HepG2 세포주를 포함한 여러 세포주에 대해 일관된 세포 분화에 대한 조절과 항암효과를 보이는것을 확인하였으며, Zhu 등⁵⁾은 홍삼의 대사체중 하나인 20(S)-protopanaxadiol 이 HepG2 세포주에서 항암효과를 발휘할 수 있다는 것을 보고하였다. 이들은 소포체 스트레스 (endoplasmic reticulum stress) 등을 홍삼의 효과에 대한 기전으로 제시하였지만, 아직 그 체계적인 기전은 규명되지 않았다.

네트워크 약리학은 약물 표적의 파악과 새로운 적응증을 규명할 수 있는 새로운 방법으로 부상하였다⁷⁾. 네트워크 약리학은 약물과 인체 단백질에 대한 네트워크를 구축한 뒤 이를 분석하는 방식으로 적용되는데, 연구자들은 이를 활용하여 한약의 시스템 수준 기전을 규명하는데 적용하여 왔다⁸⁾. 특히, Guney 등⁹⁾은 네트워크 근접도라는 개념을 제안하고 이 방식이 약물에 대한 새로운 적응증을 탐색할 수 있음을 밝혔다. 이 연구의 핵심 결과는 인체 단백질-단백질 상호작용 네트워크 (protein-protein network, PPI)상에서 약물의 표적이 질병 단백질에 가까이 위치할 수록 그 약물이 질병 표현형에 영향을 미칠 경향성이 더 높다는 것이다. 이 등

¹⁰⁾은 이 네트워크 근접도 개념을 천연물에 적용하여 비알콜성 간염에 대한 플라보노이드를 규명할 수 있음을 제시하고 이를 검증한 바 있다. 따라서, 네트워크 기반 접근방식은 천연물 연구에 있어 유효성분과 핵심기전을 파악할 수 있는 유용한 도구일 것이다.

본 연구에서는 네트워크 약리학 접근방식을 활용해 간세포암종에 대한 홍삼의 핵심 기전과 유효성분을 규명하고자 하였다. 우리는 실험적으로 검증된 홍삼에 대한 성분과 표적정보를 통해 홍삼에 대한 네트워크를 구축하였다. 이후, 선택된 홍삼 표적들 중 간세포암종에 대한 단백질들을 파악하고 관련 신호전달 경로를 규명하였다. 마지막으로, 인체 단백질 상호작용 네트워크상에서 홍삼성분의 표적과 간세포암종 관련 단백질 사이의 근접도를 평가하여 간세포암종에 유효하게 작용할 수 있는 핵심 성분들을 파악하고자 하였다.

II. 방법

1. 홍삼의 성분정보 파악

홍삼의 성분정보는 네트워크 약리학 데이터베이스 중 하나인 TM-MC¹¹⁾를 활용하여 얻어졌다. TM-MC는 크로마토그래피 방식으로 검출할 수 있는 한약 성분에 대한 포괄적인 성분정보를 제공하는 데이터베이스이며, 성분에 대한 정보를 표준 ID 중 하나인 pubchem ID를 제공하는 특성이 있다. TM-MC에서 홍삼 (紅蔘, Red Ginseng)으로 검색한 결과 491종 성분이 확인되었다. 이후의 분석을 위하여, 성분에 대한 대표적인 표준 ID인 Pubchem ID가 존재한 416종 성분에 대한 917개의 PubChem ID가 표적 정보를 검색할 잠재적인 홍삼의 성분으로 선택되었다.

2. 검증된 표적정보 파악

본 연구에서는 Huang 등¹²⁾이 구축한 데이터 세트와 STITCH¹³⁾ 및 TTD¹⁴⁾ 데이터베이스에서 검색된 실험적으로 검증된 성분-표적 쌍이 홍삼 성분의 표적 정보로 고려되었다. Huang 등은 여러 데이터베이스를 종합하여 천연물에 대한 다양한 직접/간접 표적 정보를 정리하였다. STITCH는 문헌, 실험적 근거 등을 포함한 다양한 데이터베이스를 종합하여 40만개 이상

*Corresponding author: Won-Yung Lee, School of Korean Medicine, Gachon University, 1342 Seongnam-daero, Sujeong-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do, 13120, Republic of Korea

Tel : +82-31-961-5825, Fax : +82-31-961-5835, E-mail : sundong2371@gmail.com

•Received : August 21, 2022 / Revised : August 25, 2022 / Accepted : August 26, 2022

의 성분에 대한 표적 정보를 통합 제공하는 데이터베이스이다. TTD는 알려진 표적정보, 질환의 관련된 표적 및 신호전달경로 등을 제공하는 종합 약학 데이터베이스이다. 단백질 명명체계의 통일을 위해, STITCH의 ensemble protein ID는 SYNGO¹⁵⁾를 활용하여 gene symbol로 변환되었다.

3. 성분-표적 네트워크 구축 및 시각화

홍삼의 성분과 단백질 표적간의 관계는 성분-표적 네트워크 구축 및 분석되어 파악되었다. 성분-표적 네트워크는 이분 네트워크 (bipartite network) 중 하나로서, 네트워크를 구성하는 점인 노드(node)는 성분 혹은 단백질 표적을 의미하고, 성분과 표적간의 연결 관계인 엣지(edge)는 성분-표적관계를 나타낸다. 인삼의 성분, 표적 및 이들간의 연결관계를 시각화하기 위하여 Cytoscape (version 3.8.2)¹⁶⁾가 활용되었다.

4. 비알콜성 간염 관련 단백질 선정

비알콜성 간염의 단백질은 Comparative Toxicogenomics Database (CTD)¹⁷⁾에서 파악되었다. CTD는 건강에 관여하는 외부 환경 인자들의 정보제공을 목표로 하는 공공 데이터베이스로서, 전문가들이 선별한 질병에 관련된 단백질을 제공해주고 있다. CTD에서 확인된 간세포암종 (hepatocarcinoma)의 관련 단백질 중에, 기존에 실험적인 근거가 있는 관련성인 “Marker/Mechanism” 및 “Therapeutic”으로 선별되어 있는 단백질을 선정하였다. 그 결과, 간세포암종과 관련된 522개의 단백질이 확인되었다.

5. 유전자 집합 농축분석

홍삼 성분 그룹에 대한 관련된 생물학적 기능 혹은 신호전달 경로는 통계적 분석 도구인 유전자 집합 농축 분석 (Gene set enrichment analysis, GSEA)¹⁸⁾을 통해 확인되었다. GSEA는 유전자 발현 데이터를 분석하여 표현형이 다른 두 종류의 표본들 간에 발현 값들의 차이가 통계적으로 유의미한지 평가하는 방법이다. GSEA 분석은 Enrichr 데이터베이스를 파이썬 환경에서 활용할 수 있는 모듈인 gseapy를 활용하여 분석되었다. Enrichr은 gene ontology¹⁹⁾, kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG)²⁰⁾ 등을 활용하여 신호전달 경로, 생물학적 기능과 같은 여러 유전자 세트를 대상으로 adjusted p-value, z-score, combined score와

같은 연관성을 계산해주는 방식이다. Combined score는 p-value의 역수에 로그를 취한 값과 z-score의 곱해 계산한 값으로, 통계적 검정력과 유의성을 동시에 고려할 수 있는 장점이 있다. 관련 신호전달 경로를 정리한 유전자 세트인 KEGG 분석시, organism system의 신호전달경로만을 고려하였고, B형 간염과 같은 질환에 관련된 pathway는 제외하였다.

6. 네트워크 근접도 분석

네트워크 근접도는 참조 분포 (reference distribution)를 기반으로 약물의 표적 단백질 군과 질병 관련 단백질 군 사이의 최단 경로 길이의 상대점수로 계산된다. 간략히 서술하면, T를 약물 표적 세트, S를 질병 세트, $d(s, t)$ 를 노드 s와 t 사이의 최단 경로 길이라고 정의할 때, 네트워크 근접도를 파악하기 위해선 먼저 아래와 같이 질병 관련 단백질과 약물 표적 간의 평균 근접거리 $d_c(S, T)$ 를 계산한다.

$$d_c(S, T) = \frac{1}{\|T\|} \sum_{t \in T} d(s, t)$$

다음으로, 단백질 상호작용 네트워크에서 분석하고자 하는 질병 단백질과 표적의 크기와 정도가 일치하는 1000개의 단백질 세트에 S와 T를 상호작용 네트워크상의 무작위 단백질로 치환한 후 이들 단백질 군 사이의 $d_c(S, T)$ 를 측정하여 얻어진 값들을 활용하여 참조 분포를 구성한다. 마지막으로, 상대 점수(relative score)는 참조 분포에서 얻어진 $d_c(S, T)$ 의 평균 $u_{d_c}(S, T)$ 과 표준편차 $\sigma_{d_c}(S, T)$ 를 이용하여 아래와 같이 계산된다.

$$Z_{d_c} = \frac{d - u_{d_c}(S, T)}{\sigma_{d_c}(S, T)}$$

상대점수 Z_{d_c} 가 낮을수록 분석한 약물이 특정 질환에 사용될 경향성이 보인다. 예를 들어, 이 등¹⁰⁾은 비알콜성 간염에 대한 근접도 점수가 가장 낮은 11개 flavonoids 중 8개에서 이 예측결과를 지지할 수 있는 실험적인 근거를 발견했는데, 이는 네트워크 근접도가 질환에 효과가 있는 성분을 예측하는데 있어 합리적인 성능을 보이는 것을 나타낸다. 네트워크 근접도에 대한 보다 자세한 내용은 Guney 등이 수행한 연구⁹⁾에서 확인할 수 있다.

III. 결과

1. 홍삼의 성분-표적 네트워크 구축

Symmap, Huang 등이 구축한 데이터 세트, TTD 등 다양한 네트워크 약리학 데이터베이스를 활용하여 홍삼의 성분과 실험적으로 검증된 표적을 파악하였다. 이들 정보들을 통합한 결과, 53종의 홍삼에 대한 성분과 427종의 단백질 표적 사이의 664개의 성분-표적 정보를 확보하였다 (Table 1). 홍삼의 표적 단백질 중에서는 PRB2, RBL2, NOS2, RB1, TNF, CASP3,

PTGS2, RELA, IL1B, PPP1R3A, 및 RHAG 등이 관련된 홍삼의 성분 숫자(degree)가 가장 높았다 (각각 11, 11, 9, 8, 8, 7, 7, 7개). 반면, 302개의 단백질 표적의 경우 오로지 하나의 홍삼 성분과 연관성이 있는 것이 발견되었다. 충분한 숫자의 홍삼성분과 관여하는 표적을 고르기 위해, 본 연구에서는 홍삼 성분에 대한 평균 degree (1.56) 보다 더 높은 수치를 보이는 121개의 단백질 표적을 핵심 표적으로 선택하여 이후 분석에 사용하였다.

Table 1. Statistics of experimentally target information for red ginseng

Source	N_I	N_T	N_{ITA}
STITCH	15	169	319
TTD	7	8	9
Huang et al.	42	255	385
Total	53	427	664

N_I : number of ingredients, N_T : number of targets, N_{ITA} : number of ingredient-target associations

2. 간세포암종 단백질과의 연관성 및 관련 신호전달 경로 규명

홍삼의 단백질 표적들과 간세포암종과의 연관성을 확인하고자 홍삼에 대해 구축된 성분-표적 정보와 간세포암종 단백질 사이의 중첩된 정도를 계산하였다. 중첩도 분석 결과, 122종의 홍삼 표적 중에 22개의 표적이 간세포암종과 관련된 것을 확인하였다. 초기하테스트 (hypergeometric test)는 이 중첩도가 무작위 기대값 (random expectation)보다 유의미하게 차이나는지 확인하기 위하여 수행되었다. 무작위 기대값들은 표적정보 수집에 사용된 데이터세트에서 홍삼의 성분수와 동일한 표적을 무작위로 선택한 다음 간세포암종 관련 단백질과 선택된 표적간의 중복된 표적 수를 반복적으로 계산하여 얻어졌다. 홍삼의 표적 단백질이 간세포암종과의 중첩된 표적수가 무작위 기대값보다

3.34배 높은 것을 확인하였으며, 통계적 유의도 역시 0.01 이하인 것을 확인하였다. 이것은 홍삼의 단백질 표적이 간세포암종의 단백질 그룹과 유의미한 경향성을 보인다는 것을 나타낸다.

이후, GSEA를 활용하여 홍삼이 어떠한 간세포암종과 관련된 신호전달 경로와 관련되는지 평가하였다. 간세포암종과 관련된 신호전달 경로는 아래와 같이 KEGG에서 간암에 대해 제시된 7개의 신호전달 경로를 참조하였다: calcium signaling pathway, cell cycle, MAPK signaling pathway, p53 signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, TGF-beta signaling pathway, wnt signaling pathway. 이들 신호전달 경로 중에, 5개의 신호전달 경로가 홍삼의 표적들과 통계적으로 유의미하게 관련되는 것을 확인하였다 (Table 2).

Table 2. Significant enrichment pathway related to hepatocellular carcinoma by targets of red ginseng (adjusted p-value of ≤ 0.05).

Term	Overlap	Adjusted P-value	Combined Score	Protein targets (coding gene official symbol)
MAPK signaling pathway	16/255	2.92E-11	331.02	TGFB1, BDNF, FOS, MAPK14, TNF, RELA, EGFR, NFKB1, IKBKB, IL1B, CASP3, DDIT3, FAS, AKT1, MAPK1, TP53
p53 signaling pathway	6/69	1.06E-05	204.80	CASP9, CASP8, CASP3, FAS, BAX, TP53
PI3K-Akt signaling pathway	14/341	9.28E-08	138.82	BAD, NOS3, RELA, EGFR, NFKB1, IL2, VEGFA, RBL2, CASP9, IKBKB, IL6, AKT1, MAPK1, TP53
TGF-beta signaling pathway	5/84	0.0003	94.61	SMAD2, TGFB1, IFNG, MAPK1, TNF
Cell cycle	5/124	0.0019	49.83	RB1, SMAD2, RBL2, TGFB1, TP53

3. 성분-표적 네트워크 시각화

파악된 홍삼의 성분, 표적, 그리고 관련된 신호전달 경로를 통합하여, 홍삼에 대한 성분-표적 네트워크를 구축하고 시각화하였다 (Figure 1). 네트워크는 49종의 성분과 121개의 단백질 표적 사이의 363개의 성분-표적 관계로 구성되어 있다. 네트워크에서의 점은 홍삼의 성분 혹은 단백질 표적을 나타내고, 이들 사이의 점은 홍삼의 성분에 대해 실험적으로 검증된 단백질 표적을 나타낸다. MAPK signaling pathway, PI3K-Akt

signaling pathway, p53 signaling pathway, TGF-beta signaling pathway, 및 Cell cycle과 관련된 단백질 표적의 갯수는 각각 16, 14, 6, 5, 5개로 확인되었다. 특히, MAPK1, EGFR, TGFB1, TNF, TP53 등은 간세포암종과 관련된 단백질이면서 동시에 여러 간암 관련 신호전달 경로와 관련되어 있는 것으로 확인되었다. 이 결과들은 홍삼이 간세포암종에 작용하는 핵심 기전이 다양한 단백질 표적들과 연관되어있는 것을 나타낸다.

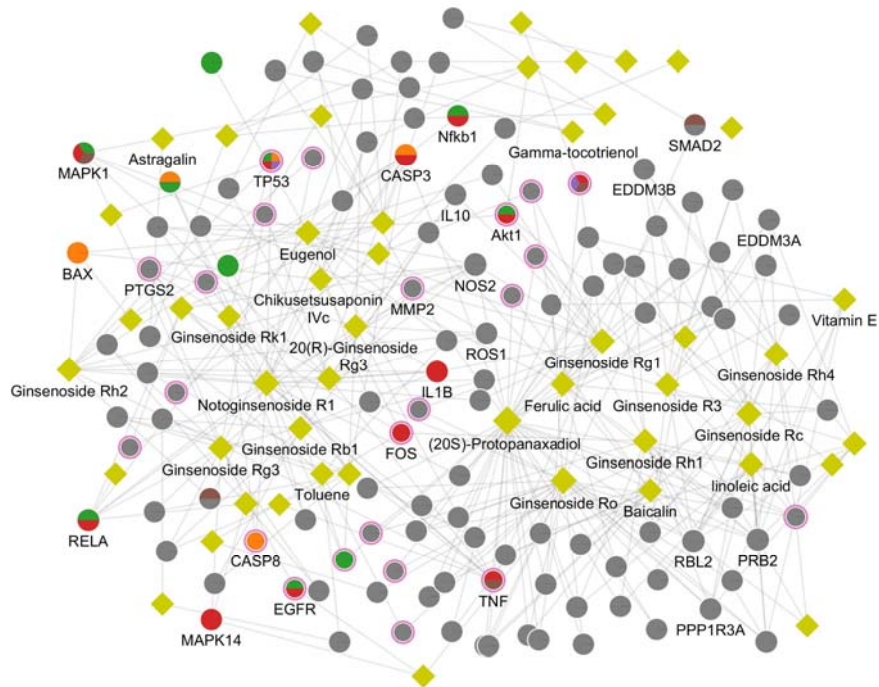


Fig. 1. Compound-target network for Red ginseng. Circles and diamonds denote protein targets and compounds, respectively. The targets proteins related with hepatocarcinoma and hepatocarcinoma-related signaling pathways are presented by border and body colors, respectively. The yellow diamonds indicate “Compounds”, and the purple empty circle is “Genes associated with the liver cancer”. Each color means the corresponding pathway related with the liver cancer (i.e. Wood, TGE beta; Purple, Cell cycle; Red, MAPK; Light green, PI3K-Akt; Orange, p53; Grey, Others)

4. 네트워크 근접도 기반 홍삼의 유효성분 규명

간세포암종에 대한 홍삼의 유효성분을 규명하기 위해, 단백질 상호작용 네트워크 상에서 홍삼 성분의 표적과 간세포암종 관련 단백질 사이의 네트워크 근접도가 평가되었다. 홍삼 성분과 간세포암종 사이의 네트

워크 근접도는 최단거리의 평균 $d_c(S, T)$ 와 상대점수 Z_{d_c} 가 사용되었다. 최단거리의 평균은 홍삼 성분의 표적군을 기준으로 간세포암종과 관련된 단백질들에 대한 최단거리들의 평균을 나타낸 것이고, 상대점수는 홍삼 성분의 표적과 간세포암종과 관련된 단백질의 수

만큼 무작위로 선택된 단백질 군 사이의 거리를 기준으로 실제 관측값이 얼마나 가까이 있는지를 계산한 값이다. 이를 고려하면, 간세포암종에 대한 $d_c(S, T)$ 및 Z_{d_c} 가 낮은 홍삼 성분들은 단백질 표적이 간세포암종과 관련된 단백질과 네트워크상 밀접한 관련이 있으며, 이 성분들은 간세포암종에 대한 유효성분일 가능성이 높을 것이다. 분석결과, Ginsenoside Rg1, Acetic Acid, Ginsenoside Rh2, 20(R)-Ginsenoside Rg3, Notoginsenoside R1, Ginsenoside Rk1, 2-Methylfuran, Hexanal, Ginsenoside Rd,

Ginsenoside Rh1가 가장 낮은 상대점수를 갖는 것을 확인되었다 (Table 3). 특히, Ginsenoside Rg1 및 Ginsenoside Rh2는 상대점수가 -5.67 및 -4.80에 달하여, 무작위 예측값 대비 간세포암종 단백질군에 매우 가까운 단백질 표적들을 가지고 있는 것으로 확인되었다. 이 외의 다른 성분들도 모두 상대점수가 -3 이하를 보이고 있는데, 이와 같은 네트워크상 밀접도는 이들 성분들이 간세포암종에 대해 유효성분으로 작용할 가능성이 높다는 것을 나타낸다.

Table 3. Name, Pubchem ID, and structure of potential active ingredients of Red ginseng on the liver cancer

Compound name	Pubchem ID	$d_c(S, T)$	Z_{d_c}
Ginsenoside Rg1	441923	0.56	-5.67
Acetic Acid	176	0.43	-4.80
Ginsenoside Rh2	119307	0.67	-4.15
beta-Caryophyllene	5281515	0.70	-3.81
Notoginsenoside R1	441934	0.80	-3.75
Ginsenoside Rk1	11499198	0.50	-3.68
2-Methylfuran	10797	0.00	-3.68
Hexanal	6184	0.00	-3.65
Ginsenoside Rd	11679800	0.00	-3.65
Ginsenoside Rh1	12855917	0.73	-3.51

IV. 고찰

본 연구에서는 네트워크 약리학 기법을 활용하여 간세포암종에 대한 홍삼의 핵심 기전과 유효성분을 규명하고자 하였다. 이를 위해, 홍삼의 성분-표적 네트워크 및 인체 단백질 상호작용 네트워크가 구축되었으며 간세포암종에 대한 단백질이 파악되었다. 이들 네트워크 구축을 통해 실험적으로 검증된 홍삼의 성분과 표적 정보를 확보하였으며, 초기하테스트를 통해 홍삼 성분의 표적들이 간세포암종과 유의미한 연관성을 가진다는 것을 확인하였다. GSEA 분석 결과는 홍삼 성분의 표적들이 어떤 신호전달경로와 관련되는지를 규명하였다. 성분-표적 네트워크 시각화 분석 및 근접도 분석은 간세포암종에 대한 홍삼의 핵심 표적과 유효성분을 제시할

수 있었다.

GSEA 결과를 통해 홍삼 성분의 표적들과 관련된 간세포암종에 관련된 신호전달 경로를 파악할 수 있었다. KEGG²⁰⁾에 따르면, 이 중 MAPK signaling pathway는 세포 증식, 분화 및 이동을 포함한 다양한 세포 기능에 관여하고 있다. p53 signaling pathway는 DNA 손상, 산화 스트레스 및 활성화된 종양 유전자 등에 의해 활성화되며, 세포주기의 정지 및 세포 사멸에 깊게 관련되어 있다. PI3K-Akt signaling pathway는 다양한 유형의 세포 자극 또는 독성 손상에 활성화되며, mRNA 전사, 단백질 번역, 세포 증식과 같은 기본적인 기능을 조절한다. 이 신호전달 경로들과 홍삼의 표적 사이의 유의미한 관련성은 홍삼의 기전이 간암세포주와 관련된 다양한 신호전달 경로를 조절하여 나타난다는 것을 나



타낸다.

네트워크 근접도 분석을 통해 간세포암종에 유의미하게 관련된 홍삼 성분의 성분을 규명할 수 있었다. 기존 연구결과는 예측된 홍삼의 유효성분 중 일부들이 실제로 간세포주에 활용될 수 있음을 지지해주었다. 예를 들어, ginsenoside Rg1은 네트워크 근접도상 간세포암종 단백질군과 상대적 점수가 가장 낮은 홍삼 성분이었는 데, Gao 등²¹⁾은 ginsenoside Rg1이 간에 대한 보호 효과가 있음을 종합적으로 고찰하며 간세포암종에 활용될 수 있음을 제시하였다. 또한, ginsenoside Rh2 역시 네트워크 근접도상 간세포암종 단백질군과 밀접한 관련 을 나타냈는데 ($d_c(S, T) = 0.67 = 0$, $Z_{d_c} = -4.15$), Yang 등²²⁾은 ginsenoside Rh2가 beta-catenin 및 자가 포식을 통해 간세포암종을 억제하는 효과가 있음을 보고한 바 있다. 또한, notoginsenoside R1도 간세포암종 단백질군에 대한 낮은 상대점수를 보였는데, Li 등²³⁾은 notoginsenoside R1은 종양 축진의 역할을 하는 miR-21의 발현을 억제하여 간세포암에 대한 항암효과를 보인다는 것을 보고한 바 있다. Ginsenoside Rk1 역시 암세포 암종 단백질군과 네트워크상 밀접한 관계를 보였는데, 김 등²⁴⁾은 Ginsenoside Rk1가 텔로머라제 활성 및 세포사멸 유도를 통해 인간 간암세포주에 대한 항암효과를 보였다고 보고하였다. 이와 같은 기존 연구들과의 일치 결과는 네트워크 근접도를 통해 간세포암 종에 대한 홍삼의 효과를 성공적으로 규명한 것을 나타 낸다.

본 연구결과의 한계는 다음과 같다. 먼저, 네트워크 근접도는 단백질 상호작용 네트워크 상에서의 관련성을 활용하여 성분-질환을 예측해주는 방식으로, 예측한 유효성분 중 위양성 결과 (false-positive results)가 포함 되어 있을 수 있다. 또한, 홍삼에 대한 성분정보는 정량 적인 정보가 결여되어 있어, 연구에 포함되어 있는 성 분이 약리학적으로 유의미한 정도의 농도로 포함되어 있는지에 대한 추가적인 연구가 필요하다. 그럼에도 불 구하고, 본 연구는 네트워크 기반 접근방식이 한약의 핵심 기전 및 유효성분을 체계적으로 예측할 수 있는 유용한 도구임을 보여주었다.

감사의 글

이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연

구재단의 지원을 받아 수행된 연구임
 (NRF-2022R1I1A1A01057053).

References

1. Shirakami Y, Sakai H, Shimizu M. Retinoid roles in blocking hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2015;4(4):1-7.
2. Mancuso A, Perricone G. Hepatocellular carcinoma and liver transplantation: state of the art. *J Clin Transl Hepatol.* 2014;2(3):176-181.
3. Nam KY, Lee NR, Moon BD, Song GY, Shin HS, Choi JE. Changes of ginsenosides and color from black ginsengs prepared by steaming-drying cycles. *Korean J Med Crop Sci.* 2012;20(1):27-35.
4. Oh J, Jeon S Bin, Lee Y, Lee H, Kim J, Kwon BR, et al. Fermented red ginseng extract inhibits cancer cell proliferation and viability. *J Med Food.* 2015;18(4):421-428.
5. Zhu GY, Li YW, Tse AKW, Hau DKP, Leung CH, Yu ZL, et al. 20 (S)-Protopanaxadiol, a metabolite of ginsenosides, induced cell apoptosis through endoplasmic reticulum stress in human hepatocarcinoma HepG2 cells. *Eur J Pharmacol.* 2011;668(1):88-98.
6. Tian S, Huang P, Gu Y, Yang J, Wu R, Zhao J, et al. Systems Biology Analysis of the Effect and Mechanism of Qi-Jing-Sheng-Bai Granule on Leucopenia in Mice. 2019;10:1-16.
7. Hopkins AL. Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery. *Nat Chem Biol.* 2008;4(11):682-90.
8. Lee WY, Lee CY, Kim YS, Kim CE. The methodological trends of traditional herbal medicine employing network pharmacology. *Biomolecules.* 2019;9(8):1-15.
9. Guney E, Menche J, Vidal M, Barabasi AL. Network-based in silico drug efficacy screening. *Nat Commun.* 2016;7:1-13.
10. Lee WY, Lee CY, Lee JS, Kim CE. Identifying candidate flavonoids for non-alcoholic fatty liver disease by network-based strategy. *Front Pharmacol.* 2022;13(892559):1-14.

11. Kim SK, Nam SJ, Jang H, Kim A, Lee JJ. TM-MC: A database of medicinal materials and chemical compounds in Northeast Asian traditional medicine. *BMC Complement Altern Med.* 2015; 15(218):1–8.
12. Huang Y, Fang J, Lu W, Wang Z, Wang Q, Hou Y, et al. A Systems Pharmacology Approach Uncovers Wogonoside as an Angiogenesis Inhibitor of Triple-Negative Breast Cancer by Targeting Hedgehog Signaling. *Cell Chem Biol.* 2019;26: 1143–1158.e6.
13. Szklarczyk D, Santos A, Von Mering C, Jensen LJ, Bork P, Kuhn M. STITCH 5: Augmenting protein-chemical interaction networks with tissue and affinity data. *Nucleic Acids Res.* 2016;44: D380–D384.
14. Zhu F, Han BC, Kumar P, Liu XH, Ma XH, Wei XN, et al. Update of TTD: Therapeutic Target Database. *Nucleic Acids Res.* 2009;38:D787–791.
15. Koopmans F, van Nierop P, Andres-Alonso M, Byrnes A, Cijssouw T, Coba MP, et al. SynGO: an evidence-based, expert-curated knowledge base for the synapse. *Neuron.* 2019;103(2):217–234.
16. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* 2003;13(11): 2498–2504.
17. Davis AP, Grondin CJ, Johnson RJ, Sciaky D, McMorran R, Wieggers J, et al. The Comparative Toxicogenomics Database: Update 2019. *Nucleic Acids Res.* 2019;47:D948–D954.
18. Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, Mukherjee S, Ebert BL, Gillette MA, et al. Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102(43):15545–15550.
19. Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology (GO) database and informatics resource. *Nucleic Acids Res.* 2004;32:D258–D261
20. Ogata H, Goto S, Sato K, Fujibuchi W, Bono H, Kanehisa M. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* 1999;27(1):29–34.
21. Gao Y, Chu S, Zhang Z, Chen N. Hepatoprotective effects of ginsenoside Rg1–A review. *J Ethnopharmacol.* 2017;206:178–183.
22. Yang Z, Zhao T, Liu H, Zhang L. Ginsenoside Rh2 inhibits hepatocellular carcinoma through β -catenin and autophagy. *Sci Rep.* 2016;6(19383):1–13.
23. Li Y, Li Z, Jia Y, Ding B, Yu J. In vitro anti-hepatoma activities of notoginsenoside R1 through downregulation of tumor promoter miR-21. *Digestive diseases and sciences*, 2020;65(5): 1364–1375.
24. Kim YJ, Kwon HC, Ko H, Park JH, Kim HY, Yoo JH, Yang HO. Anti-tumor activity of the ginsenoside Rk1 in human hepatocellular carcinoma cells through inhibition of telomerase activity and induction of apoptosis. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2008;31(5):826–830.