

基于网络药理学研究肝经中药与治疗疾病的关系

王俊尧 陈建新 赵慧辉

(北京中医药大学,北京,100029)

摘要 目的:研究尝试以网络药理学的方法对肝经中药及治疗疾病的关系进行研究,探索网络药理学研究中药归经的可能性。方法:选取从分子对接筛选出 2015 版《中华人民共和国药典》中肝经中药的活性靶点,并寻找中药归经与疾病的共同活性靶点,通频次频率的统计分析,探索中药归经与治疗疾病的关系。结果:肝经中药蛋白靶点在精神和行为障碍疾病、血液及造血器官疾病和涉及免疫机制的某些疾患,妊娠、分娩和产褥期相关疾病上有较高频率的分布。结论:在网络药理学基础上得到的肝经中药与治疗疾病的关系与中医基础理论中肝的生理功能有一定关联。

关键词 肝经;网络药理学;归经;中药;数据;关系;蛋白靶点

Relationship between Chinese Medicine of Liver Meridian and Treatment Based on Network Pharmacology

Wang Junyao, Chen Jianxin, Zhao Huihui

(Beijing university of Chinese medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: The study of meridian tropism has great significance to the development of Chinese herbal medicine theory. In recent years network pharmacology had been widely used in the study of traditional Chinese medicine (TCM). This study aims to explore the relationship between liver meridian and treatment based on network pharmacology for the possibility of meridian tropism theory adopting network pharmacology. **Methods:** Molecular docking was used to screen the active targets of Chinese medicine of liver meridian in Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2015). Common active targets were searched between Chinese medicine of liver meridian and diseases. The frequency of Chinese medicine and protein with liver meridian in different disease would be analyzed to explore the relationship between tropism and indication. **Results:** The albumen targets of Chinese medicine of liver meridian has a high frequency in the diseases of mental and behavioural disorders, diseases of the blood and blood-forming organs and certain disorders involving the immune mechanism, pregnancy, childbirth and the puerperium. **Conclusion:** The relationship between treatment and Chinese medicine of liver tropism based on network pharmacology is related to physiological function of liver.

Key Words Liver meridian; Network pharmacology; Meridian tropism; Chinese medicine; Data; Relationship; Albumen target
中图分类号:R285 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.03.013

中药归经,是中药药性理论的重要组成部分,在指导中医药的临床用药中占有重要的地位。代表药物作用与脏腑经络的密切联系。归,指归属,代表了药物作用的部位和走向。经,指人体的脏腑经络。归经理论,在藏象学说和经络学说的基础上,明确了药物作用的定位和走向。研究药物的归经有利于进一步完善中药药性理论,指导临床用药,充分发挥药物治疗疾病的作用。既往学者已经通过大量的文献和实验研究对中药归经的化学成分类型分布^[1-4]、部分疾病常用中药的归经^[5-6]、部分医家常用中药的归经^[7-8]等方面进行了研究,取得了有意义的研究成果。但由于中药成分的复杂性,现有的研究方法只能从某一角度来阐述和推测归经的科学内涵,如根

据极少数的几味中药,或某一中药的几个活性成分来探讨中药归经的作用机制,并不能完全明确归经的作用机制。研究通过网络药理学的方法对 2015 版《中华人民共和国药典》中中药的化学成分进行分子对接,筛选出肝经中药的活性靶点,通过寻找活性靶点对应的疾病,探索中药归经与治疗疾病的关系。

1 资料与方法

1.1 资料来源 从 DrugBank 数据库 (<https://www.drugbank.ca>) 获得人类蛋白靶点名字,并从 Protein data bank 数据库 (PDB) (<http://www.rcsb.org/>) 下载相应蛋白结构。

从 TCMSP 数据库 (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcm->

基金项目:国家自然科学基金优秀青年科学基金资助项目(81522051)

作者简介:王俊尧(1992.08—),女,研究生,研究方向:中西医结合药理,E-mail:bucmwyj@163.com

通信作者:陈建新(1981.06—),男,博士,教授,研究方向:中医药数据挖掘的方法学,E-mail:Cjx@bucm.edu.cn;赵慧辉(1977.05—),男,博士,研究员,研究方向:中国传统医药防治心血管疾病,E-mail:hh686@126.com

sp. php)、TCMID 数据库(<http://www.megabionet.org/tcmid/>)、TCM Database@Taiwan 数据库(<http://tcm.cmu.edu.tw/>)、万方医学、中国知网、Pubmed 文献数据库中收集中整理药与中药成分的关系,并下载化学结构。

从 Therapeutic Target Database (TTD, <https://db.idrblab.9org/ttd/>)数据库中查询整理靶点与疾病的关系,根据《GB/T14396-2016 疾病分类与代码》(ICD-10 疾病编码)将其统一为章节编码并对应相应中文疾病名。

1.2 方法

1.2.1 肝经的活性靶点预测 将收集到的化学成分和靶点结构,利用 Sybyl-X 2.0 软件 Surflex-Dock 分子对接模块进行虚拟筛选;以打分函数 C-Score 为标准评价中药成分与靶标间相互作用,以 C-Score 为阈值筛选出中药成分结合较好的靶标。根据靶标在肝经中药中出现的频率,筛选出频率前 10% 的靶点,将靶点导入 Cytoscape 3.6 从 Reatome 中找到蛋白及相互作用蛋白作为归经的活性靶点。

1.2.2 肝经中药治疗疾病及基因富集分析 寻找肝经中药活性蛋白及其相互作用蛋白与疾病蛋白及相互作用蛋白的共同靶点,统计共同靶点在不同疾病中的分布频率,分析归经与治疗疾病的关系。将各归经蛋白上传至 Gene ontology 进行基因富集分析。

2 结果

2.1 分子对接结果 通过文献、TCMSP 和 TCMID 等数据库,共收集 303 味肝经中药的 6 970 种化学成分。从 Drug Bank 上收集到人类蛋白靶点名称 936 个,下载到蛋白结构 198 个,通过分子对接筛选出 173 味肝经中药的 157 个活性分子,86 个活性蛋白靶点。根据靶点出现频率筛选出 20 个重要蛋白靶点。使用 Cytoscape3.6 查找 Reactomes 数据库中筛选得到的 20 个肝经蛋白的 419 个相互作用蛋白。见表 1。

表 1 肝归经中药重要蛋白靶点

归经	蛋白名	Uniprot ID
肝	CACNA1S、PTPRE、NADPH、NOXO1、NT5C2、TOP2A、PDE7A、DHRS4、GPX1、PECR、GPX7、IMPDH1、NAGK、SCNN1A、YES1、S100P、IMPA2、BALF5、BLLF1	Q13698、P23469、Q8NFA2、P49902、P11388、Q13946、Q9BTZ2、P07203、Q9BY49、Q96SL4、P20839、Q9UJ70、P37088、P07947、P25815、O14732、P03198、P03200

2.3 归经的治疗疾病分析 通过对肝经中药的蛋

白靶点不同疾病中靶点出现的频次和频率进行分析发现,肝经中药的蛋白靶点在精神和行为障碍疾病,血液及造血器官疾病和涉及免疫机制的某些疾患,妊娠、分娩和产褥期相关疾病上有较高频率的分布。见表 2。

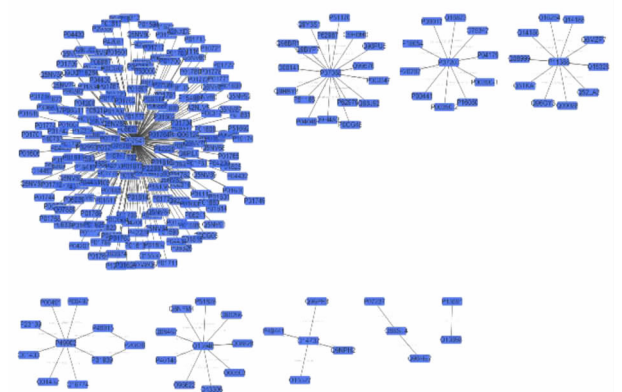


图 1 肝经中药活性蛋白靶点及相互作用蛋白

表 2 肝归经中药治疗疾病的作用靶点分布频率频次

疾病	疾病总靶点 (个)	频次 (次)	频率
某些传染病和寄生虫病	2 539	41	0.016
肿瘤	6 513	77	0.012
血液及造血器官疾病和涉及免疫机制的某些疾患	2 056	39	0.019
内分泌、营养和代谢疾病	4 145	68	0.016
精神和行为障碍	1 586	36	0.023
神经系统疾病	4 228	56	0.013
眼和附器疾病	2 364	42	0.018
耳和乳突疾病	750	10	0.013
循环系统疾病	4 006	70	0.017
呼吸系统疾病	2 684	46	0.017
消化系统疾病	2 684	54	0.018
皮肤和皮下组织疾病	3 125	48	0.015
肌肉骨骼系统和结缔组织疾病	3 566	58	0.016
泌尿生殖系统疾病	2 289	35	0.015
妊娠、分娩和产褥期	556	12	0.022

2.4 基因功能富集分析 使用 Cytoscape3.6 软件的 BiNGO 插件,对肝经中药的作用蛋白分子功能和生物过程进行了富集分析。见图 2,3。基因富集分析结果显示,肝经中药可以通过调节谷胱甘肽过氧化物酶、ATP 水解酶、磷脂酰肌醇激酶、蛋白质蛋白丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸激酶、腺苷酸环化酶、腺苷脱氨酶、花生四烯酸脂氧合酶、钙依赖性蛋白激酶 C 等酶的活性,从而影响机体的分子功能;肝经中药还可以通过影响配体门控离子通道的活动、丝裂原活化蛋白激酶激酶的结合、三磷酸腺苷的结合、G 蛋白偶联受体的结合、CD8 受体的结合、白细胞介素-6 的结合,从而调节机体的生命活动。

基因功能富集分析结果显示,肝经中药可以影响白三烯、脂联素 A4 介导的炎性反应的调节;通过对 B 细胞稳态、T 细胞分化、巨噬细胞应答和肥大细胞的组胺分泌等方面影响生物体的免疫反应;同时肝经中药和可以对生物体的干细胞因子、中性粒细胞、内皮生长因子进行调节,影响细胞的有丝分裂周期,神经元发展,大脑发育和骨骼肌细胞的增殖。

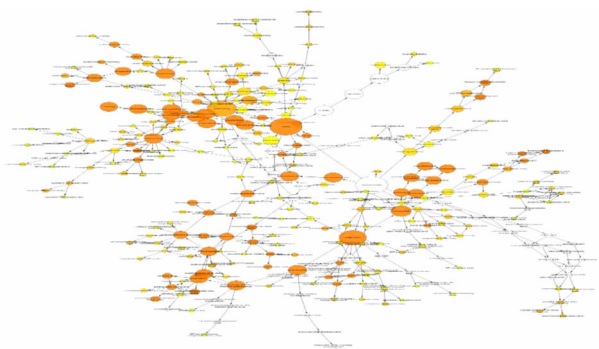


图 2 肝经中药分子功能富集分析

注:颜色深浅代表了基因的富集度,颜色越深富集度越高

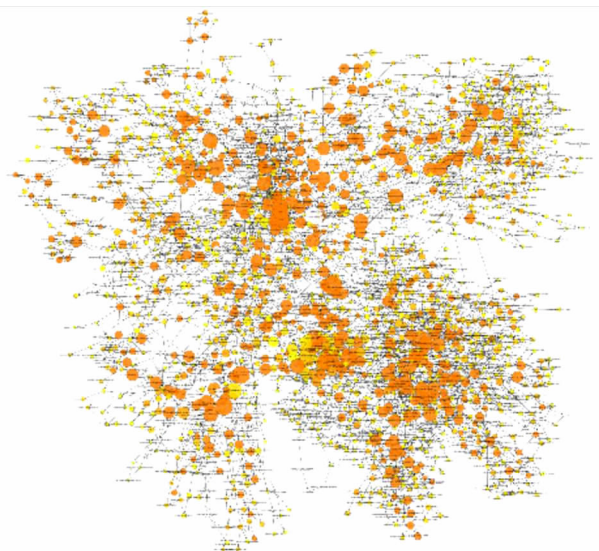


图 3 肝经生物过程功能富集分析

注:颜色深浅代表了基因的富集度,颜色越深富集度越高

3 讨论

本研究运用网络药理学研究系统,对中药归经的治疗疾病、分子功能和生物过程进行了研究。通过网络药理学研究发现,肝经中药蛋白靶点在精神和行为障碍疾病,血液及造血器官疾病和涉及免疫机制的某些疾患和妊娠、分娩和产褥期相关疾病上有较高频率的分布;并通过基因富集分析探索了肝经中药对机体分子功能和生物过程的影响。

在中医基础理论中,肝最主要的生理功能为主疏泄和主藏血。肝的疏泄功能主要体现在 3 个方面:一是调畅情志,二是促进消化吸收,三是促进血

液运行。肝的藏血功能主要体现在 3 个方面,其一,肝为血海,能储存一定血量;其二,肝调节血液在人体各部分血量的分布;其三,肝有防止出血的功能。肝的疏泄功能和藏血功能是相辅相成的。肝血能涵养肝气,维持肝气的舒和调达,保证疏泄功能的正常发挥。血液无论是储存于肝中还是输布于全身各个部位,或是下注于月经,都是依赖于肝的疏泄功能。故而当肝功能出现问题,人的情志、消化系统和血液系统都很容易出现问题。如肝气抑郁时,便会出现情绪低落、纳呆食少、胸胁胀痛等症状,相当于抑郁之类的精神类疾病。通过网络药理学研究发现,肝经中药的活性蛋白在精神和行为障碍疾病中分布频率最高,吻合了中医基础理论中对肝功能的描述。有研究对肝疏泄功能的生理机制进行了研究和探讨,其认为肝的生理功能与下丘脑的功能密切相关^[9-10],下丘脑不仅是生理调节的神经中枢^[11],也是神经调节的关节脑区^[12]。已有研究表明,下丘脑结构无论是在宏观还是微观上发生改变,都可能关系到精神疾病的发生^[13-15]。下丘脑相关激素,受体、神经肽的改变也会导致下丘脑-垂体-肾上腺素皮质(HPA)轴功能亢进,进而损伤海马神经元,导致以海马为重要组成部分的情感调节中枢功能异常,导致情志病的发生^[16]。基因富集显示,肝经中药可以调节相关蛋白酶活性,从而实现肝疏泄调节情志的功能。如基因富集结果显示肝经中药可以调节蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性,而现有研究表明蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶可以影响神经元形态发生^[17];蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶还可以影响 β -淀粉样蛋白前体蛋白酶活性^[18], β -淀粉样蛋白前体蛋白水解后可产生 β -样淀粉蛋白,使得神经元细胞外产生 β -淀粉样蛋白沉积,造成神经元损伤,导致相关精神和行为障碍疾病的发生。故而肝经中药可以通过对丝氨酸/苏氨酸激酶活性的调节,调节情志,治疗精神和行为障碍疾病。除此之外,基因富集分析也显示显示,肝经中药可作用于多个腺苷酸环化酶、磷脂酶和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等蛋白。腺苷酸环化酶是经典的抗抑郁症靶点,故而肝经中药可以治疗由于肝功能异常所导致的情志病。

肝主藏血的生理功能体现在储藏血液、调节血液分布和防止出血功能上。当肝功能异常时也会导致血液及造血器官疾病,如原发性血小板异常^[19]、高血压^[20]等疾病。基因富集分析显示,肝经中药可以对中性粒细胞进行调节,干细胞因子 c-kit 信号通路和血管内皮生长因子信号通路等方面进行调节。

干细胞因子是一种重要的造血生长因子,与受体 c-kit 特异性结合后,将细胞外信号传导至细胞内,使基因特异性表达并对基因表达进行调节,影响生物体的造血干细胞的增殖、分化和迁移。近年来部分研究表明 c-kit 干细胞因子系统对血管再生、造血细胞和生殖细胞等的发生发育起着至关重要的作用^[21]。血管内皮生长因子对生理性血管的生长有着密切的关系,而生理性血管的生长又与胚胎发育、伤口修复、子宫内膜增生等过程密切相关。血管内皮生长因子可以通过改变细胞外基质促进血管生长^[22],促进血管内皮细胞增殖^[23],增加血管通透性^[24]。实验研究表明贫血患者往往伴有血管内皮生长因子表达异常的现象^[24-25],同时肝经中药可以通过对干细胞因子 Kit 信号通路、血管内皮生长因子等方面影响血管生长及血管通透性,从而影响营养物质的传输与分布,符合中医学基础理论中肝主藏血和肝主疏泄的生理表现。肝经中药因子对血管内皮生长因子的调节还可间接影响 MAPK 的表达^[26],从而影响血小板及高血压疾病等相关疾病的治疗^[26-27]。

本研究通过网络药理学,尝试对中药的治疗疾病及生物学基础进行研究,对中药的归经理论进行探索性研究,研究结果表明通过网络药理学得到的肝经中药适应证与中医基础理论中肝的生理功能较为吻合,网络药理学在归经理论的研究中有一定的应用价值。但由于现有数据库局限,以及研究方法的不完善,结果还有待进一步完善。

参考文献

- [1] 许福泉,管华诗,冯媛媛,等. 基于化学成分的中草药归经研究[J]. 亚太传统医药,2012,8(5):197-199.
- [2] 高振,李凤森,哈布拉提·吾甫尔. A Study of the Law of Herbal Administration in Treating Lung-distension by TCM Physicians through History Using Cluster Analysis[J]. 中医杂志(英文版),2011,31(4):303-307.
- [3] Zhao Y, Li Y, Wang X, et al. The experimental study of Cortex Eucommiae on meridian tropism; the distribution study of aucubin in rat tissues[J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 46(2):368-373.
- [4] Chang YX, Sun YG, Li J, et al. The experimental study of Astragalus membranaceus on meridian tropism; the distribution study of astragaloside IV in rat tissues[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2012, 911:71-75.
- [5] 孟明洋,梁卓. 基于数据挖掘对中医药治疗慢性前列腺炎用药规律的研究[J]. 新中医,2018,50(1):151-154.
- [6] 李巧元,刘梦超,刘梅颜,等. 中西医结合治疗精神压力引起心肌缺血的效果研究[J]. 中国医药,2014,9(5):624-627.
- [7] 尹培辛,王晓彤,林海雄,等. 数据挖掘《傅青主女科》的中药规律[J]. 现代中药研究与实践,2018,32(1):68-70,79.
- [8] 宋亚南,蒋燕,邓艳芳,等. “金元四大家”高频用药比较分析[J]. 中医药学报,2016,44(1):21-24.
- [9] 岳广欣,陈家旭,王竹风. 肝主疏泄的生理学基础探讨[J]. 北京中医药大学学报,2005,28(2):1-4.
- [10] 黄娜娜,孙晓倩,杨倩,李晓宇,孙蓉. 大鼠急性肝损伤(肝郁脾虚证)病证结合模型的研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(23):4400-4407.
- [11] Baroncini M, Jissendi P, Balland E, et al. MRI atlas of the human hypothalamus[J]. Neuroimage, 2012, 59(1):168-180.
- [12] Vandewalle G, Hébert M, Beaulieu C, et al. Abnormal hypothalamic response to light in seasonal affective disorder[J]. Biol Psychiatry, 2011, 70(10):954-961.
- [13] Schindler S, Geyer S, Strauß M, et al. Structural studies of the hypothalamus and its nuclei in mood disorders[J]. Psychiatry Res, 2012, 201(1):1-9.
- [14] Bao AM, Hestiantoro A, Van Someren EJ, et al. Colocalization of corticotropin-releasing hormone and oestrogen receptor-alpha in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in mood disorders[J]. Brain, 2005, 128(Pt 6):1301-1313.
- [15] Lee YB, Yu J, Choi HH, et al. The association between peptic ulcer diseases and mental health problems: A population-based study: a STROBE compliant article[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(34):e7828.
- [16] Cowen PJ. Not fade away: the HPA axis and depression[J]. Psychol Med, 2010, 40(1):1-4.
- [17] 郑在予,段树民. LKB1 对大鼠海马神经元轴突发育的调控途径初探[J]. 上海:中国科学院上海生命科学研究院神经科学研究所,2006.
- [18] 李洁颖,晏勇,蔡志友,等. 胰岛素信号通路磷脂酰肌醇-3-激酶/丝氨酸苏氨酸蛋白激酶对海马神经元 β -淀粉样前体蛋白裂解酶 1 表达的影响[J]. 中华神经科杂志,2009,42(11):737-741.
- [19] 洪亚庆,常玉双,沈舒文. 沈舒文教授从肝藏血治疗原发性血小板减少性紫癜临床经验[J]. 陕西中医,2010,31(1):73-74.
- [20] 郑偕扣,徐强. 王保和从肝藏血主疏泄论治高血压病的经验[J]. 江苏中医药,2014,46(10):24-25.
- [21] Cao Y, Chen H, Zhou L, et al. Heterodimers of placenta growth factor/vascular endothelial growth factor. Endothelial activity, tumor cell expression, and high affinity binding to Flk-1/KDR[J]. J Biol Chem, 1996, 271(6):3154-3162.
- [22] Plouët J. Angiogenesis[J]. Pathol Biol (Paris), 1999, 47(4):300.
- [23] Charpentier MS, Conlon FL. Cellular and molecular mechanisms underlying blood vessel lumen formation[J]. Bioessays, 2014, 36(3):251-259.
- [24] 张莉,王慧君,李洪强,等. 再生障碍性贫血患者骨髓微血管密度及血管内皮生长因子表达的意义[J]. 中华血液学杂志,2007,28(8):528-531.
- [25] 王欢,张嵘,刘卓刚,等. 良性贫血病人血浆中血管内皮生长因子水平的研究[J]. 中国医科大学学报,2006,35(1):92-92.
- [26] 魏强,李静,刘艺,等. MAPK 信号转导通路在人参多糖诱导白血病 K562 细胞凋亡中的作用[J]. 中草药,2013,44(2):193-198.
- [27] 安欣. MAPK 家族成员活化表达参与高血压心脏重构的实验研究[D]. 银川:宁夏医科大学,2010.