

引用本文:张科,宋崑,李波,等.基于网络药理学的北豆根治疗溃疡性结肠炎的作用机制[J].安徽医药,2022,26(8):1672-1675.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.08.044.

◇药物与临床◇



基于网络药理学的北豆根治疗溃疡性结肠炎的作用机制

张科^a,宋崑^a,李波^a,谷冬梅^b,李正翔^a,袁恒杰^a

作者单位:天津医科大学总医院,^a药剂科,^b检验科,天津 300052

通信作者:袁恒杰,女,主任药师,硕士生导师,研究方向为临床药理学与医院药学,Email:hengjieyuan@163.com

摘要: **目的** 探究北豆根治疗溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)的作用机制。**方法** 首先以“北豆根”为关键词,检索TC-MSP 数据库,获取药材的已知化学成分和靶点,再以口服生物利用度和药物相似性为条件筛选得到有效成分。然后在 GeneCards 数据库检索 UC 靶点,取成分靶点与疾病靶点交集基因。将药物、成分和交集基因数据导入 Cytoscape 3.2.1 软件中绘制“药物-有效成分-靶点”网络,并进行分析。应用 STRING 数据库绘制靶点蛋白互作网络(PPI),度值高的靶点蛋白作为北豆根治疗 UC 的关键靶点。应用 DAVID 数据库进行基因功能注释分析和功能富集分析。**结果** 筛选获得北豆根 10 个有效成分,78 个对应靶点,UC 相关基因 3 982 个;“药物-有效成分-靶点”网络中与 UC 相关的靶点 44 个。PPI 核心网络包含 43 个蛋白,分析结果显示:北豆根治疗 UC 可能与 IL6、TNF、MYC、CASP3、MAPK14、PTGS2、NOS3、ESR1、RELA、MMP2 等有关。基因功能注释分析和功能富集分析结果显示:北豆根治疗 UC 是通过参与细胞增殖与凋亡调控、信号传导、转录调控及药物反应等生物过程,调控 TNF、PI3K-Akt、T 细胞受体等信号通路等发挥作用。**结论** 北豆根中多个成分作用于多个靶点和通路,发挥治疗 UC 的作用。

关键词: 结肠炎,溃疡性; 蝙蝠葛属; 北豆根; 网络药理学; 有效成分; 靶点; 通路; 作用机制

Mechanism of *Menispermis Rhizoma* in the treatment of ulcerative colitis based on network pharmacology

ZHANG Ke^a, SONG Yin^a, LI Bo^a, GU Dongmei^b, LI Zhengxiang^a, YUAN Hengjie^a

Author Affiliation:^aDepartment of Pharmacy,^bDepartment of Clinical Laboratory Medicine, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Abstract: **Objective** To explore the mechanism of *Menispermis Rhizoma* in the treatment of ulcerative colitis (UC). **Methods** The parameters of Oral Bioavailability (OB), Drug-Like (DL) and corresponding targets were obtained by using TCSSP database, and the active components were screened. UniProt database was used to find the official gene names of the component targets of *Menispermis Rhizoma*, and GeneCards database was used to find the targets of UC, the intersection gene of the component target and the disease target were obtained. Cytoscape 3.2.1 was used to construct a "drug-active ingredient-target" network, construct a target protein interaction network (PPI) using the STRING database. GO enrichment analysis and KEGG pathway annotation analysis were conducted using David database. **Results** A total of 10 active components, 78 corresponding targets, 3982 UC related genes and 44 targets related to UC in drug-component-target network were screened out. The PPI network contains 43 proteins. Protein Interaction Network analysis indicated that UC might be related to IL6, TNF, MYC, CASP3, MAPK14, PTGS2, NOS3, ESR1, RELA and MMP2. In addition, GO enrichment analysis and KEGG pathway enrichment showed that *Menispermis Rhizoma* could treat UC through biological processes such as transcriptional regulation, cell proliferation and apoptosis regulation, signal transduction and drug response. TNF pathway, PI3K-Akt pathway, T cell receptor signal pathway play a role in the treatment of UC. **Conclusion** Several components of *Menispermis Rhizoma* act on multiple targets and pathways, and play a role in the treatment of UC.

Key words: Colitis, ulcerative; *Menispermum*; *Menispermis Rhizoma*; Network pharmacology; Active ingredient; Target; Pathway; Mechanism

溃疡性结肠炎(ulcerative Colitis, UC)是一种病情复杂,病程较长,主要累及结肠的非特异性炎症反应疾病,临床很难根治^[1]。目前治疗以药物治疗为主,常用药物包括氨基水杨酸类、糖皮质激素、免疫抑制剂等,但治疗效果并不理想,且存在明显的

不良反应^[2]。北豆根又名蝙蝠葛根,为防己科植物蝙蝠葛(*Menispermum dauricum* DC.)的干燥根茎^[3],其性寒味苦,有小毒,归大肠、胃、肺经,具有祛风止痛和清热解毒等功效,常用于咽喉肿痛、热毒泻痢、风湿痹痛等疾病的治疗^[4]。临床很多含有北豆根的

中药方剂,对肠炎都有一定疗效。相关试验也证实:北豆根单味药原液,可以通过降低 IL-6、MMP 和 VEGF 水平发挥对 UC 模型大鼠的治疗作用^[2];近年来,网络药理学发展迅速,该方法可以全面、系统对中药多成分、多靶点作用机制进行阐释^[5]。本研究拟采用该方法探究北豆根治疗 UC 的作用机制,为其在临床研究提供依据。

1 方法

1.1 北豆根化学成分与对应靶点的收集与筛选 打开 TC MSP 数据库,以“北豆根”为关键词检索,收集药材的化学成分。口服生物利用度(OB)是指药物经血管外途径给药后吸收进入全身血液循环的相对量,其与药物疗效密切相关。药物相似性(DL)指化合物与已知药物的相似性,DL 高的化合物并不是药物,但具有成为药物的可能。研究显示:药物研发过程中 OB 和 DL 的好坏是决定目标分子是否筛选进入研究下一步的关键参数^[6]。本研究以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ ^[7] 为条件筛选有效成分;最后,收集数据库中成分对应的靶点。打开 Uniprot 数据库,选择 UniprotKB,输入检索式为“reviewed: yes AND organism: Homo sapiens (Human)”进行检索,获得 20394 条人类的相关靶蛋白及对应基因的信息,以 Excel 格式导出,再使用“VLOOKUP”函数进行匹配,将靶点转换便于分析的标准基因名。

1.2 UC 治疗靶点的筛选 打开 Genecards 数据库,以“ulcerative colitis”为关键词检索,收集 UC 疾病靶点,以 Excel 格式导出,然后将“1.1”节中北豆根的成分靶点的标准基因与疾病靶点基因取交集。

1.3 “药物-有效成分-靶点”网络的构建与分析 将药物、有效成分和交集基因数据处理后,导入 Cytoscape 3.2.1 软件中绘制“药物-有效成分-靶点”网络图,其中不同类型节点分别代表北豆根、有效成分和靶点,边代表三者之间的关系。然后对网络进行拓扑结构分析,再根据节点连接度(Degree)和介数中心性(Betweenness Centrality, BC)对网络图进行调整,节点的大小反映 Degree 的大小,边的粗细反映 BC 的大小^[7]。

1.4 PPI 网络的构建与核心靶点的筛选 将“1.2”节的交集基因导入 STRING 数据库绘制蛋白-蛋白互作网络图(protein-protein interaction, PPI),将分析数据以 TSV 格式导出,导入 Cytoscape 3.2.1 软件,绘制北豆根与 UC 靶点的 PPI 网络图,并对网络进行拓扑结构分析;再利用“Generate style from statistics”工具对网络节点的大小和颜色进行设置。网络图中节点的大小、颜色及其深浅变化代表 Degree 值的大小,边的粗细反映了 Combine Score 的大小,从

中筛选出 Degree 值和接近中心度排名靠前的靶点作为核心靶点。

1.5 基因功能注释分析和功能富集分析 将 1.2 节的交集基因导入 DAVID 数据库,并限定物种为人,进行基因功能注释分析和功能富集分析,然后导出数据,对生物过程($P < 0.01$)和信号通路($P < 0.05$)进行筛选,并进行绘图。

2 结果

2.1 北豆根有效成分及靶点的确定 检索得到北豆根化学成分 31 个,以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 为条件筛选出有效成分 10 个,包括蝙蝠葛碱、叶含去羟尖防己碱、蝙蝠葛辛碱、山豆根碱、山豆根波芬诺灵碱、汉防己碱、光千金藤碱、光千金藤定碱、北豆根碱、碎叶紫堇碱,具体信息见表 1。检索得到 10 个成分对应靶点 175 个:蝙蝠葛碱作用靶点 2 个,叶含去羟尖防己碱作用靶点 2 个,蝙蝠葛辛碱作用靶点 26 个,山豆根波芬诺灵碱作用靶点 24 个,汉防己碱作用靶点 25 个,光千金藤碱作用靶点 27 个,光千金藤定碱作用靶点 30 个,北豆根碱作用靶点 10 个,碎叶紫堇碱作用靶点 29 个,山豆根碱没有对应靶点。将所得靶点蛋白名称转换为标准基因名,删除重复和无效靶点,共获取北豆根活性成分作用靶点 78 个。

表 1 北豆根中 10 个有效成分的基本信息

MOL 编号	成分名称	中文名	OB/%	DL
MOL012904	dauricumine	蝙蝠葛碱	52.86	0.44
MOL012909	acutuminine	叶含去羟尖防己碱	39.29	0.41
MOL012910	bianfugecine	蝙蝠葛辛碱	36.08	0.42
MOL012915	dauricine	山豆根碱	30.16	0.44
MOL012918	dauriporphinoline	山豆根波芬诺灵碱	33.54	0.57
MOL012920	sinomenine	汉防己碱	30.98	0.46
MOL012921	stepharine	光千金藤碱	31.55	0.33
MOL012922	stepholidine	光千金藤定碱	87.35	0.54
MOL005944	matrine	北豆根碱	63.77	0.25
MOL009149	cheilanthalifoline	碎叶紫堇碱	46.51	0.72

2.2 UC 治疗靶点的筛选结果 Genecards 数据库检索到 UC 疾病靶点 3982 个,将北豆根有效成分靶点和 UC 疾病靶点取交集,得到交集基因 44 个,作为北豆根治疗 UC 的“关键靶点”,见图 1。

2.3 “药物-有效成分-靶点”网络分析结果 “药物-有效成分-靶点”网络图共包括 55 个节点(1 个药物节点,10 个活性成分节点、44 个靶点节点)和 229 条边,见图 2。对网络图进行拓扑分析显示:蝙蝠葛辛碱、山豆根波芬诺灵碱、汉防己碱、光千金藤碱、光千金藤定碱、北豆根碱能与 9 个以上的靶点相连接,推测这 6 个成分是北豆根治疗 UC 的主要有效成分。

2.4 PPI 网络的分析 PPI 网络包含 43 个节点(其

中 HPSE 靶点与其他靶点没有连接关系)和 260 条边,平均节点 Degree 值为 11.8。该网络中度值(Degree)排名前 10 的靶点包括:IL6、TNF、MYC、CASP3、MAPK14、PTGS2、NOS3、ESR1、RELA、MMP2。将 PPI 网络分析数据从 STRING 数据库中以 TSV 格式导出,然后导入 Cytoscape 3.2.1 软件中,绘制北豆根与 UC 靶点的 PPI 网络图,见图 3。

2.5 功能注释分析和功能富集分析结果 北豆根治疗 UC 的“关键靶点”共在 97 个($P<0.01$)GO term 上富集,其中生物过程(BP)66 个,分子功能(CC)9 个,细胞组成(MF)22 个。BP、CC、MF 的 COUNT 得分排名前 9 的分析结果如图 4 所示,主要涉及的生物学功能与过程包括:细胞增殖与凋亡调控、信号传导、转录调控及药物反应等;北豆根治疗 UC 的关键靶点共富集在 62 条($P<0.05$)通路上,主要通过调控 TNF、PI3K-Akt、T 细胞受体等信号通路发挥作用,如图 5 所示。

3 讨论

本研究应用网络药理学方法对北豆根治疗 UC 的物质基础和作用机制进行研究。结果显示:从北豆根 31 个已知化学成分中共筛选获得有效成分 10 个,北豆根和 UC 的交集靶基因有 44 个,进一步探究了北豆根治疗 UC 的生物学过程、分子功能和细胞组成,发现涉及的生物过程包括:炎症反应、免疫反应、RNA 聚合酶 II 启动子对转录的正向调控、转录的正向调节、细胞增殖正向调控、信号传导以及药物反应、细胞凋亡的负向调控、缺氧反应、NO 生物合成过程的正向调控等;分子功能包括:酶结合、蛋白结合、蛋白质同源二聚化活性、转录因子活性序列特异性 DNA 结合、序列特异性 DNA 结合、RNA 聚合酶 II 转录因子活性等,这些与 UC 的发生和发展都有一定的联系。

PPI 网络分析结果显示 IL6、TNF、MYC、CASP3、MAPK14、PTGS2、NOS3、ESR1、RELA、MMP2 等靶点是网络中的核心节点,推测它们是北豆根治疗 UC 的关键靶点。现代研究表明 IL-6 在 UC 的发病过程中起着重要的作用,它的过度表达会使肠上皮细胞通透性增加,促进巨噬细胞和中性白细胞的分泌、增殖、溢出并浸润至炎症部位,诱发或加重 UC^[9-12]。KEGG 通路富集分析发现 62 条通路与 UC 的发病相关,主要包括:TNF 通路、PI3K-Akt 通路、T 细胞受体信号通路等。研究显示:介导细胞的增殖、分化、凋亡和自噬的 PI3K-Akt 信号通路^[13],活化后可上调肠黏膜 p-Akt 表达^[14],激活核转录因子,上调 TNF- α 、IL-6 等促炎因子的转录水平,诱发炎症,导致组织损伤^[15],同时研究表明 UC 相关的癌变与过度活化的

PI3K-Akt 信号通路有密切联系^[16-17]。

综上,北豆根可能通过 IL6、TNF、MYC、CASP3、MAPK14、PTGS2、NOS3、ESR1、RELA、MMP2 等靶点调控 TNF 通路、PI3K-Akt 通路、T 细胞受体信号通路等通路,进而对消化、免疫等系统进行干预,抑制 UC 炎症损伤。通过网络药理学的方法,不仅能有效阐明多成分中药的药理作用机制,还能揭示其作用靶点与关键信号通路,为中药药理和作用机制研究提供新的思路与方法,从而促进传统中药的应用。但是该方法也存在一定局限,其研究结论主要着眼于药材中的已知成分、靶点和通路,而容易忽略了可能存在的未知成分和非核心靶点和通路的作用;虽能预测发挥作用的靶点,但无法获知靶点的上调或下调,无法预测其功能改变的方向;同时也不能体现中药体内代谢产物对机制的影响。因此,需要进一步的体内外试验进行验证网络药理学的预测的结果,才能更加准确、客观地阐释中药的药理作用机制。

(本文图 1~5 见封三)

参考文献

- [1] 张雪莹,单海燕,薄淑萍.隔药灸神阙八阵穴联合角调五音疗法治疗溃疡性结肠炎伴焦虑抑郁状态效果观察[J].天津中医药大学学报,2019,38(1):38-41.
- [2] 刘建军,刘东,王希龙.等.北豆根对溃疡性结肠炎模型大鼠的治疗作用[J].中医学报,2018,33(8):1476-1479.
- [3] 杨培,张瑞,翟阳.等.响应面法优化北豆根粗多糖的除蛋白工艺及其神经保护活性研究[J].天然产物研究与开发,2019,31(4):579-586.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:99.
- [5] 邱杨,张菁.基于网络药理学的黄连治疗糖尿病的作用机制研究[J].医学信息,2020,33(1):64-67.
- [6] 邵君傲,李佳川,顾健.等.基于网络药理学的黄连总生物碱防治糖尿病的作用机制研究[J].中药材,2019,42(6):1374-1379.
- [7] 杨娟,郭丽娜,王单单.等.基于网络药理学研究三草降压汤抗糖尿病合并高血压的分子机制[J].安徽医药,2020,24(3):433-437,后插 2.
- [8] 李敏瑶,温晓雯,黄海阳.等.黄芩汤治疗溃疡性结肠炎分子作用机制的网络药理学研究[J].中药新药与临床药理,2020,31(2):199-205.
- [9] FERNANDES RV, SOARES BMP, RANGEL CN, et al. Acute infection with strongyloides venezuelensis increases intestine production IL-10, reduces Th1/Th2/Th17 induction in colon and attenuates dextran sulfate sodium -induced colitis in BALB/c mice [J].Cytokine,2018,111:72-83.
- [10] LI J, UENO A, FORT Gasia M, et al. Profiles of lamina propria T helper cell subsets discriminate between ulcerative colitis and Crohn's disease [J].Inflamm Bowel Dis,2016,22(8):1779-1792.
- [11] 崔畅婉,孙嵘嵘.溃疡性结肠炎发病机制研究进展[J].现代免

- 疫学, 2019, 39(1): 77-80.
- [12] 何彩玲, 高苏俊. 白细胞吸附疗法在重症炎症性肠病中的应用进展[J]. 安徽医药, 2019, 23(4): 827-830.
- [13] MAYER I A, ARTEGA C L. The PI3K/AKT pathway as a target for cancer treatment[J]. Annu Rev Med, 2016, 67(3): 11-28.
- [14] MIAO X, TANG Q, MIAO X, et al. ErbB3 binding protein 1 (EBP1) participates in the regulation of intestinal inflammation via mediating Akt signaling pathway[J]. Mol Immunol, 2015, 67(2): 540-551.
- [15] 方培植, 黄会云, 张涛, 等. PI3K/Akt-mTOR 信号通路介导溃疡性结肠炎相关癌变的实验研究[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2015, 24(7): 802-806.
- [16] KHRE V, DAMMANN K, ASBOTH M, et al. Overexpression of PAK1 promotes cell survival in inflammatory bowel diseases and colitis-associated cancer[J]. Inflamm Bowel Dis, 2015, 21(2): 287-296.
- [17] 余今菁, 李欢, 胡邱宇, 等. 基于高通量测序技术的溃疡性结肠炎患者肠道菌群多样性研究[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2018, 47(4): 460-465.
- (收稿日期: 2020-12-26, 修回日期: 2021-02-06)

引用本文: 王秀萍, 张婧, 王田田. 壮骨活血汤治疗骨性关节炎 38 例[J]. 安徽医药, 2022, 26(8): 1675-1678. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.08.045.

◇ 药物与临床 ◇



壮骨活血汤治疗骨性关节炎 38 例

王秀萍, 张婧, 王田田

作者单位: 河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)骨科, 河南 洛阳 471000

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题(2018ZY2019)

摘要: **目的** 探究壮骨活血汤对骨性关节炎病人血清碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、中性粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)表达及 Lysholm 膝关节评分的影响。**方法** 选择 2019 年 1 月至 2020 年 1 月河南省洛阳正骨医院收治的骨性关节炎病人 75 例, 依据随机数字表法将其分成对照组 37 例与观察组 38 例, 对照组予以“基础治疗+布洛芬缓释胶囊”, 观察组在对照组基础上服用壮骨活血汤, 疗程 4 周。比较两组疗效、血清 bFGF 与 GM-CSF 表达水平、Lysholm 膝关节评分、骨代谢指标。**结果** 观察组总有效率高于对照组, 差异有统计学意义(92.11% 比 72.97%, $P < 0.05$)。治疗后两组血清 bFGF、GM-CSF 表达水平均低于治疗前($P < 0.05$), 且治疗后观察组血清 bFGF [(1.38±0.33) ng/L 比 (2.43±0.62) ng/L]、GM-CSF [(2.06±0.65) ng/L 比 (3.35±1.07) ng/L] 表达水平均低于对照组($P < 0.05$)。治疗后两组 Lysholm 膝关节得分均大于治疗前($P < 0.05$), 且治疗后观察组 Lysholm 膝关节评分大于对照组[(90.62±3.25) 分比 (77.84±2.16) 分, $P < 0.05$]。治疗后两组 I 型胶原羧基端前肽(PICP)、甲状旁腺素(PTH)、25-羟基维生素 D[25-(OH)D]水平均高于治疗前($P < 0.05$), 且治疗后观察组 PICP、PTH、25-(OH)D 水平均高于对照组($P < 0.05$)。**结论** 壮骨活血汤治疗骨性关节炎疗效更佳, 能改善膝关节功能, 有效调节血清 bFGF 与 GM-CSF 表达水平、骨代谢指标。

关键词: 骨性关节炎; 壮骨活血汤; 成纤维细胞生长因子; 临床疗效; Lysholm 膝关节评分

Effects of Zhuanggu Huoxue decoction on osteoarthritis: 38 cases

WANG Xiuping, ZHANG Jing, WANG Tiantian

Author Affiliation: Department of Orthopedics, Luoyang Orthopedic-Traumatological Hospital of Henan Province (Henan Provincial Orthopedic Hospital), Luoyang, Henan 471000, China

Abstract: **Objective** To explore the effect of Zhuanggu Huoxue decoction on the expressions of serum basic fibroblast growth factor (bFGF), neutrophil macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) and Lysholm knee joint score in patients with osteoarthritis. **Methods** A total of 75 patients with osteoarthritis admitted to Luoyang Orthopedic-Traumatological Hospital of Henan Province from January 2019 to January 2020 were selected. They were divided into control group ($n=37$) and study group ($n=38$) according to the random number table. The control group was given "basic treatment+ibuprofen sustained-release capsule", and the study group was given "Zhuanggu Huoxue decoction" on the basis of the control group for 4 weeks. The therapeutic effect, serum bFGF and GM-CSF expression levels, Lysholm knee joint score and bone metabolism index were compared between the two groups. **Results** The total effective rate of the study group was higher than that of the control group, and the difference between the two groups was statistically significant (92.11% vs. 72.97%, $P < 0.05$). After treatment, the expression levels of serum bFGF and GM-CSF in the two groups were lower than those before treatment ($P < 0.05$), and the expression levels of serum bFGF [(1.38±0.33) ng/L vs. (2.43±0.62) ng/L] and GM-CSF [(2.06±0.65) ng/L vs. (3.35±1.07) ng/L] in the study group were lower than those in the control group ($P < 0.05$). After treatment, the Lysholm