

藏药沙棘总黄酮防治慢性支气管炎的网络药理学研究[△]

任青措*,余羊羊,切尼项毛,扎西卓玛,降拥四郎,张艺,泽翁拥忠*(成都中医药大学民族医药学院,成都611137)

中图分类号 R29;R285;R562.2*1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)22-3119-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.22.21

摘要 目的:探讨藏药沙棘总黄酮(TFH)防治慢性支气管炎的潜在作用机制,为其进一步开发利用提供参考。方法:利用中药系统药理学分析平台数据库筛选TFH有效成分,通过PharmMapper网络服务系统、BATMAN-TCM网络药理学研究平台、Drug-Bank数据库、OMIM数据库预测并匹配TFH有效成分作用于慢性支气管炎的潜在靶点(即靶基因),借助生物分子功能注释系统3.0进行GO富集和KEGG通路注释分析,采用Cytoscape 3.5.1软件构建TFH防治慢性支气管炎的“成分-靶点-通路”网络,并进行网络拓扑学分析。结果:共筛选出槲皮素、表儿茶素、槲皮素-3-甲基醚等13个TFH有效成分,涉及PIK3CG、PRKCA、ALOX5基因等30个潜在作用靶点。上述靶点多分布于细胞膜和细胞质中,且主要通过蛋白质氨基酸磷酸化反应、信号转导等生物过程以及蛋白结合、转移酶活性调节等分子功能来发挥对慢性支气管炎的防治作用。上述靶点共涉及64条通路,靶点富集数量排名前10位的通路分别为Fc epsilon RI信号通路、血管内皮生长因子信号通路、丝裂原激活的蛋白激酶信号通路、T细胞受体信号通路、胶质瘤、ErbB信号通路、Toll样受体信号通路、自然杀伤细胞介导的细胞毒性、非小细胞肺癌、黏着斑。TFH防治慢性支气管炎的“成分-靶点-通路”网络共有107个节点、449条边,平均节点度值为8.299,网络中心度为0.411。其中,Fc epsilon RI信号通路、血管内皮生长因子信号通路和丝裂原激活的蛋白激酶信号通路是该网络的核心通路(节点度值 ≥ 9 ,中介中心性 > 0.001),MAPK1、PIK3CG、AKT1等基因是该网络的核心靶点(节点度值 ≥ 40 ,中介中心性 > 0.1)。结论:TFH有效成分槲皮素、表儿茶素、槲皮素-3-甲基醚等可能通过Fc epsilon RI信号通路、丝裂原激活的蛋白激酶信号通路、血管内皮生长因子信号通路等作用于MAPK1、PIK3CG、AKT1等靶点,进而发挥对慢性支气管炎的防治作用。

关键词 网络药理学;藏药;沙棘;沙棘总黄酮;慢性支气管炎;作用机制

Study on Network Pharmacology of Total Flavonoids of Tibetan Medicine *Hippophae rhamnoides* for Prevention and Treatment of Chronic Bronchitis

REN Qingcuo, YU Yangyang, QIENIXIANGMAO, ZHAXIZHUOMA, JIANGYONGSILANG, ZHANG Yi, ZEWENGYONGZHONG(College of Ethnomedicine, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the potential prevention and treatment mechanism of total flavonoids of Tibetan medicine *Hippophae rhamnoides* (TFH) on chronic bronchitis, and to provide reference for further development and utilization. METHODS: TCM system pharmacology analysis platform database (TCMSP) was used to screen effective components of TFH. PharmMapper network service system, BATMAN-TCM network pharmacology research platform, DrugBank database and OMIM database were all used to predict and match effective components of TFH on the potential target (target gene) of chronic bronchitis. GO enrichment and KEGG pathway annotation analysis were conducted by biomolecular function annotation system 3.0. Cytoscape 3.5.1 software was used to establish TFH “component-target-pathway” network for the prevention and treatment of chronic bronchitis. The network topology was also analyzed. RESULTS: The network analysis indicated that there were 13 active components in TFH, such as quercetin, ent-epicatechin and quercetin-3-methylether, which could interact with 30 potential targets, such as PIK3CG, PRKCA, ALOX5, etc. Above targets were mainly distributed in cell membrane and cytoplasm. TFH played prevention and treatment effect through biological processes as protein amino acid phosphorylation reaction, signal transduction, and molecular functions such as protein binding, transferase activity regulation. Above targets involved 64 pathways in total. Top 10 pathways in the list of target enrichment number were Fc epsilon RI signaling pathway, VEGF signaling pathway, MAPK signaling pathway, T cell receptor signaling pathway, glioma, ErbB signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway, natural killer cell mediated pathway, non-small cell lung cancer and focal adhesion. There were 107 nodes, 449 edges, 8.299 flatness and 0.411 network centrality in the “component-target-pathway” network for the prevention and treatment of chronic bronchitis. Fc epsilon RI signaling pathway, VEGF signaling pathway and MAPK signaling pathway were the core pathways of this network (node degree ≥ 9 , intermediary centrality > 0.001). MAPK1, PIK3CG and AKT1 were the core targets of the network (node degree ≥ 40 , intermediary centrality > 0.1). CONCLUSIONS: The effective components of TFH as quercetin, ent-epicatechin, quercetin-3-methylether act

[△] 基金项目:国家自然科学基金面上项目(No.81473428);国家自然科学基金资助项目(No.16XMZ065);国家重点研发计划项目(No.2017YFC1703900)

* 硕士研究生。研究方向:藏医特色诊疗技术。电话:028-61800094。E-mail:1070273517@qq.com

通信作者:讲师,博士研究生。研究方向:藏医药学。电话:028-61800400。E-mail:2549626645@qq.com

on the targets of *MAPK1*, *PIK3CG* and *AKT1* through Fc epsilon RI signaling pathway, VEGF signaling pathway and MAPK signaling pathway, and then play a role in the prevention and treatment of chronic bronchitis.

KEYWORDS Network pharmacology; Tibetan medicine; *Hippophae rhamnoides*; Total flavonoids of *Hippophae rhamnoides*; Chronic bronchitis; Mechanism

沙棘为胡颓子科沙棘属植物沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)的干燥成熟果实,是藏族、蒙古族习用药材^[1],具有悠久的药用历史。该药首载于《月王药诊》^[2],在藏医巨著四部医典之《藏医药理学》^[3]中提到并肯定其为治疗呼吸道疾病的要药。藏药典籍《晶珠本草》^[4]中记载:“沙棘利肺止咳,活血化痰,利心脏血脉,消痰浊”。《藏医内科学》^[5]中明确记载:“五味沙棘散可清肺利痰”。据2015年版《中国药典》(一部)^[6]记载,沙棘有健脾消食、止咳祛痰、活血散瘀之功效。

慢性支气管炎是指气管、支气管黏膜及其周围组织的慢性非特异性炎症,其主要临床表现为咳嗽、咯痰并伴有喘息^[6]。该病为我国常见病、多发病、难治病之一,尤其以老年人多见,其发病人数占老年人总数的10%~15%,且发病率呈逐年上升的趋势^[7]。该病的发病机制尚未完全阐明,通常认为与大气污染、气候等环境因素以及吸烟、感染、免疫力低下等个体因素有关^[8]。根据该病的临床表现,藏医将其归于“肺部铁布症”“肺隆症”等范畴,并对其病因、病机、辨证及治疗进行了深入的研究,积累了丰富的临床经验。藏医理论认为该病是由“隆”“赤巴”“培根”三大基因平衡失调,培根偏盛,导致培根黏液激增堵塞气道,对局部气管、支气管及黏膜造成损伤,从而引发;这与现代药理研究认为的气道黏液高分泌为该病病理机制的学说极为相似^[9]。现代研究表明,沙棘的主要活性成分为黄酮类化合物(即2个苯环通过中央三碳相互连接而成),具有抗菌、抗病毒、抗氧化、抗炎、镇痛以及提高机体免疫力、镇咳、祛痰、解痉、抗变态反应等药理活性^[10]。尽管目前关于沙棘总黄酮(TFH)药理作用的研究较多,但针对其防治慢性支气管炎的作用机制及其靶点仍不清楚。网络药理学的概念由英国学者Hopkins AL等于2007年提出,是通过构建药物-靶点-疾病之间的复杂网络来探讨药物潜在作用机制的一门学科^[11],与藏医药对疾病诊断的综合观、整体观以及对治疗的辨证观等理念相吻合。鉴于此,本研究拟借助网络药理学的思路,从系统生物整体的角度探究TFH防治慢性支气管炎的可能机制,以期为其后续实验研究及进一步开发利用提供参考。

1 资料与方法

1.1 TFH有效成分的筛选

通过中药系统药理学分析平台数据库(TCMSP, <http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>)查询沙棘所含的化学成分,并根据TCMSP的推荐,通过口服利用度(OB)和类药性(DL)对其进行筛选(其中,OB是客观评价药物分子口服生物利用度的重要指标,DL则是可用以评价

药物分子成药性优劣的指标)^[12-13]。本研究在已有文献的基础上,以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.8$ 作为筛选条件^[14],对TFH的化学成分进行筛选,并通过有机小分子生物活性数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行结构辨别,确认TFH的有效成分。

1.2 TFH有效成分潜在靶点的预测及筛选

将“1.1”项下筛选所得的TFH有效成分以MOL2格式导入PharmMapper网络服务系统(<http://lilab.ecust.edu.cn/pharmmapper>)和BATMAN-TCM网络药理学研究平台(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>),对TFH有效成分进行靶点预测。下载预测结果,去重后,运用UniProt数据库(<http://www.uniprot.org/uniprot/>)检索功能(通过蛋白编码检索,并限定物种为“人”),最终获取与TFH有效成分相关的靶点(即靶基因)信息。

1.3 疾病靶点筛选

鉴于“慢性支气管炎”相关信息较少,故将与其相关的疾病及机制如“气道炎症”“气道重塑”等关键词输入DrugBank数据库(<https://www.drugbank.ca/>)和OMIM数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>),组合检索与慢性支气管炎防治相关的靶点,去重后,与“1.2”项下TFH有效成分的相关靶点进行匹配,得到TFH有效成分可用于防治慢性支气管炎的潜在靶点。

1.4 靶点通路富集分析

将“1.3”项下所得的潜在靶点信息导入生物分子功能注释系统3.0(MAS 3.0, <http://bioinfo.capitalbio.com/mas3/>),获取相关通路信息,通过GO富集分析探讨TFH有效成分防治慢性支气管炎潜在作用靶点的功能分布(细胞部位、生物过程、分子功能),通过KEGG通路注释探讨TFH防治慢性支气管炎作用潜在靶点的通路分布,选取靶点数目排名前10位且具统计学意义($P < 0.01$)的通路进行分析。MAS 3.0参数设置如下——Species: Homo sapiens (Human); Molecule type: protein; Database symbols: Gen Bank ACC; Functions: gene, mRNA, protein, pathway; Regulation threshold: 2.0(up), 0.5(down)。

1.5 TFH“成分-靶点-通路”网络构建及核心靶点筛选

采用Excel 2016软件创建“成分-靶点”、“靶点-通路”电子表格,将其导入Cytoscape 3.5.1软件(<http://cytoscape.org/>)中,进行“成分-靶点-通路”网络构建,以节点(Node)表示活性成分、靶点和通路,节点之间以边(Edge)相连接;运用该软件的“Network analyzer”插件计算出重要的网络拓扑学参数,以对该网络的核心靶点进行分析。其中,节点度值(Degree)为网络中与某节点相连边的数量,其值越大,表示该节点在网络中越重要;中

介中心性(Betweenness centrality)以网络中经过某节点最短路径的数量来反映该节点对网络中其他节点的影响力,其值越大,则表明该节点在网络中的影响力越大、重要程度越高;网络中心度(Network centralization)表示网络是否具有较高的中心趋势,其值越大,表示不同节点之间的关联越紧密。

2 结果

2.1 TFH有效成分筛选结果

表1 TFH有效成分及其潜在作用靶点

Tab 1 The active components and potential targets of TFH

序号	有效成分	化学式	潜在作用靶点(基因)	靶点数
1	槲皮素(Quercetin)	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	PIK3CG, PTK2B, NFKB1, PRKCB, PRKCA, POLK, TNF, MUC2, IL5, SEC14L3, EGFR, CYSLTR1, ALOX5	13
2	表儿茶素(Ent-epicatechin)	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	PTK2B, PIK3CG, MAPK14, PIK3R2, PIK3R1, MAPKAPK2, EGFR, ADRB2, MAPK1	9
3	槲皮素-3-甲基醚(Quercetin-3-methylether)	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	PRKCA, F2, SEC14L3, ABHD6, CCR7, AKT1, ALOX5, PRKCB	8
4	山柰素(Kaempferol)	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	SCNN1A, SCNN1B, SCNN1G, POLK, PTK2B, PIK3CG, EGFR	7
5	异鼠李素(Isohamnetin)	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	PRKCA, PRKCB, PIK3CG, POLK, SEC14L3, ALOX5	6
6	柚皮苷(Naringin)	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	PRKCA, PRKCB, SEC14L3, ALOX5	4
7	(-)-没食子酸没食子酸酯[(-)-gallic acid gallate]	C ₂₁ H ₁₆ O ₁₁	PRKCA, PRKCB, SEC14L3, ALOX5	4
8	异鼠李素-3-O-半乳糖苷(Isohamnetin-3-O-galactoside)	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	PRKCA, PRKCB, SEC14L3, ALOX5	4
9	儿茶素(Catechin)	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	MAPK14, PIK3CG, POLK, ADRB2	4
10	花葵素(Pelargonidin)	C ₁₆ H ₁₁ O ₅	EGFR, PTK2B, PIK3CG	3
11	杨梅素(Myricetin)	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	C3, PDE4A	2
12	芦丁(Rutin)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	NQO1, HCK	2
13	异鼠李素-3-O-β-芸香糖苷(Isohamnetin-3-O-β-rutinoside)	C ₃₁ H ₃₂ O ₁₆	PIK3CG	1

由表1可见,槲皮素的靶点最多(13个),其次依次为表儿茶素(9个)、槲皮素-3-甲基醚(8个)、山柰素(7个),提示TFH不同有效成分可作用于相同的靶点,也可作用于不同的靶点,充分体现了其多成分、多靶点防治慢性支气管炎的作用特点。

2.2 GO富集分析及KEGG通路注释

GO富集分析结果显示,TFH有效成分的潜在作用靶点多分布于细胞膜和细胞质中,且主要通过蛋白质氨基酸磷酸化反应、信号转导等生物过程以及蛋白结合、转移酶活性调节等分子功能来发挥对慢性支气管炎的防治作用。详见图1。

KEGG通路注释分析结果显示,TFH有效成分的30个潜在作用靶点共涉及64条通路,靶点数量排名前10位的信号通路包括Fc epsilon RI信号通路、血管内皮生长因子信号通路、丝裂原激活的蛋白激酶信号通路、T细胞受体信号通路、黏着斑、自然杀伤细胞介导的细胞毒性、ErbB信号通路、非小细胞肺癌、胶质瘤、Toll样受体信号通路等,详见表2。

2.3 TFH“成分-靶点-通路”网络分析及核心靶点

用Cytoscape 3.5.1软件构建TFH“成分-靶点-通路”网络,详见图2(图中,最内圈长方形表示TFH防治慢性支气管炎的有效成分,中间圈圆形表示其潜在作用靶点,最外圈箭头表示靶点富集通路)。由图2可见,本网络共有107个节点、449条边,平均节点度值为8.299,网络中心度为0.411,TFH的13个有效成分通过直接或间接作用于30个靶点,再富集到64条通路上。

其中,节点度值、中介中心性排名前10位的信号通

经TCMSP数据库共检索得沙棘化合物223个,根据OB、DL值共筛选出TFH有效成分13个,包括槲皮素、表儿茶素、山柰素等。经PharmMapper网络服务系统和BATMAN-TCM网络药理学研究平台共检索到与上述有效成分相关的靶点148个,与DrugBank和OMIM数据库检索结果匹配后,共得与慢性支气管炎防治有关的TFH有效成分潜在作用靶点30个,包括PIK3CG、PRKCA、ALOX5等基因,详见表1。

路及其网络拓扑学参数见表3,节点度值、中介中心性排名前16位的靶点及其网络拓扑学参数见表4。

由表3可见,Fc epsilon RI信号通路、血管内皮生长因子信号通路和丝裂原激活的蛋白激酶信号通路是TFH有效成分防治慢性支气管炎的核心作用通路,其节点度值 ≥ 9 ,中介中心性 > 0.001 。由表4可见,MAPK1、PIK3CG、AKT1等基因是网络中的核心靶点,其节点度值 ≥ 40 ,中介中心性 > 0.1 。

3 讨论

网络药理学是通过网络数据库进行网络构建及分析来预测不同节点关联性的一门学科。其打破了“一个药物、一个靶点、一种疾病”的传统理念,为中药与民族药多成分、多靶点、多途径效应研究提供了可量化的数据,有助于实现对单味药多成分或复方药作用机制的整体化、系统化探索^[12]。本研究借助网络药理学手段对TFH有效成分防治慢性支气管炎的潜在作用机制进行了探讨。

有效成分筛选结果显示,TFH中有13个防治慢性支气管炎的潜在有效成分,包括槲皮素及其甲基醚、表儿茶素、山柰素,异鼠李素等。其中,槲皮素及其甲基醚、表儿茶素具有抗炎、抗氧化、清除自由基的作用^[13-14];山柰素可通过抑制支气管上皮细胞内质网应激反应所致的气道黏液增多,从而缓解慢性气道疾病患者的症状^[15];异鼠李素对脂多糖(LPS)诱导的急性肺损伤动物模型具有一定保护作用^[16]。

采用网络药理学进一步对上述有效成分的核心作用靶点进行分析。结果显示,其潜在作用靶点包括

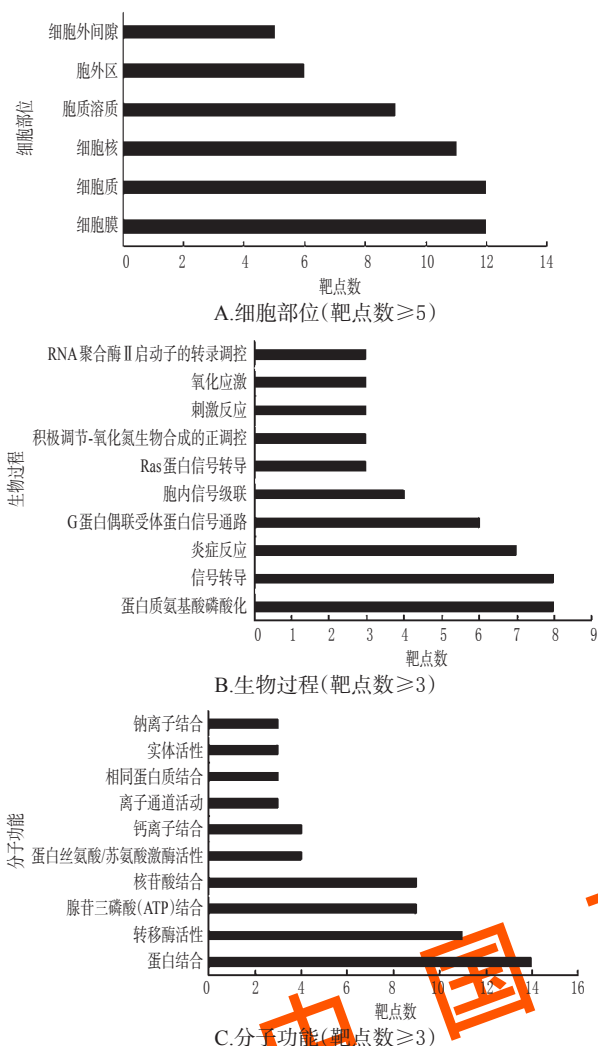


图1 潜在作用靶点的GO富集分析结果

Fig 1 Results of GO enrichment analysis of potential targets

MAPK1、PIK3CG、AKT1、EGFR等基因。其中,MAPK1编码蛋白是丝裂原活化蛋白激酶家族成员之一,也称为细胞外信号调节激酶(Erk2),主要集中在支气管平滑肌细胞的胞浆中,既往研究发现,抑制该蛋白的表达可有助于减少细胞外基质沉积、抑制细胞增殖及迁移、降低炎症因子表达,从而缓解气道重塑,减轻气道炎症损伤^[17-18]。PIK3CG编码蛋白属于磷脂酰肌醇3-激酶

(PI3K)的一个亚型,其在维持上皮细胞的结构和功能完整性中起着重要作用^[19]。有研究表明,PI3K酶可通过激活下游信号分子蛋白激酶B(Akt)及p70S6K的释放,从而促进哮喘模型大鼠气道平滑肌细胞的增殖;经PI3K特异性抑制剂Wortmannin干预后,该途径被阻断,气道平滑肌细胞的增殖受到抑制。由此可见,阻断该途径可能成为慢性支气管炎的防治手段之一^[20]。EGFR编码蛋白是表皮生长因子受体(EGFR)家族成员之一,活化后的EGFR参与了气道上皮细胞向杯状细胞的转化过程,同时还可促进气道黏蛋白的合成,进一步增加气道黏液的分泌,加重气道堵塞^[21]。Lee HM等^[22]将琼脂糖凝胶滴入大鼠气管,造成其气道堵塞,发现气道堵塞可启动大鼠体内EGFR及其编码蛋白的激活和表达增高,致使黏膜上皮细胞分化形成分泌黏液的杯状细胞。由此可见,阻断或抑制EGFR的表达可有助于缓解慢性支气管炎。

GO富集分析结果显示,TFH有效成分的潜在作用靶点多分布于细胞膜和细胞质中,且主要通过蛋白质氨基酸磷酸化反应、信号转导等生物过程以及蛋白结合、转移酶活性调节等分子功能来发挥对慢性支气管炎的防治作用。KEGG通路注释分析结果显示,与TFH有效成分防治慢性支气管炎的潜在作用靶点相关的信号通路共有64条,在富集靶点数量排名前10位的通路中,Fc epsilon RI信号通路、丝裂原激活的蛋白激酶信号通路、黏着斑、T细胞受体信号通路和Toll样受体信号通路与机体炎症反应和免疫应答有关;血管内皮生长因子信号通路、ErbB信号通路和自然杀伤细胞介导的细胞毒性与细胞的增殖与凋亡有关;胶质瘤、非小细胞肺癌与内分泌调节有关^[23-24]。既往有研究表明,在慢性支气管炎发生、发展的过程中,Fc epsilon RI信号通路、丝裂原激活的蛋白激酶信号通路、T细胞受体信号通路等均被激活,其中Fc epsilon RI受体与过敏原结合的免疫球蛋白E(IgE)交联,诱导炎症介质的释放,并在30 min内快速启动炎症反应^[25];通过下调Fc epsilon RI受体的表达,可有效缓解慢性支气管炎患者的炎症应激反应^[26]。丝裂原激活的蛋白激酶信号转导途径在整个慢性支气管炎的发病机制中起到了非常重要的作用。孟晓明^[27]研究表明,丝裂原激活的蛋白激酶信号转导通路与p38和JNK

表2 靶点数排名前10位的KEGG富集通路

Tab 2 Top 10 KEGG enrichment pathways in the list of target number

序号	信号通路	相关靶点	靶点数	P
1	Fc epsilon RI信号通路(Fc epsilon RI signaling pathway)	PRKCA, PRKB, PIK3CG, MAPK14, PIK3R2, PIK3R1, MAPK1, AKT1, TNF, IL5	10	1.65 × 10 ⁻²¹
2	血管内皮生长因子信号通路(VEGF signaling pathway)	PRKCA, PRKCB, PIK3CG, MAPK14, PIK3R2, PIK3R1, MAPKAPK2, MAPK1, AKT1	9	3.93 × 10 ⁻¹⁹
3	丝裂原激活的蛋白激酶信号通路(MAPK signaling pathway)	PRKCA, PRKCB, NFKB1, MAPK14, MAPKAPK2, EGFR, MAPK1, AKT1, TNF	9	5.55 × 10 ⁻¹⁴
4	T细胞受体信号通路(T cell receptor signaling pathway)	NFKB1, PIK3CG, MAPK14, PIK3R2, PIK3R1, MAPK1, AKT1, TNF, IL5	9	1.16 × 10 ⁻¹⁷
5	胶质瘤(Glioma)	PRKCA, PRKCB, PIK3CG, PIK3R2, PIK3R1, EGFR, MAPK1, AKT1	8	3.19 × 10 ⁻¹⁷
6	ErbB信号通路(ErbB signaling pathway)	PRKCA, PRKCB, PIK3CG, PIK3R2, PIK3R1, EGFR, MAPK1, AKT1	8	3.67 × 10 ⁻¹⁶
7	Toll样受体信号通路(Toll-like receptor signaling pathway)	NFKB1, PIK3CG, MAPK14, PIK3R2, PIK3R1, MAPK1, AKT1, TNF	8	1.37 × 10 ⁻¹⁵
8	自然杀伤细胞介导的细胞毒性(Natural killer cell mediated cytotoxicity)	PRKCA, PRKCB, PTK2B, PIK3CG, PIK3R2, PIK3R1, MAPK1, TNF	8	1.63 × 10 ⁻¹⁴
9	非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer)	PRKCA, PRKCB, PIK3CG, PIK3R2, PIK3R1, EGFR, MAPK1, AKT1	8	6.61 × 10 ⁻¹⁸
10	黏着斑(Focal adhesion)	PRKCA, PRKCB, PIK3CG, PIK3R2, PIK3R1, EGFR, MAPK1, AKT1	8	4.04 × 10 ⁻¹³

性支气管炎模型大鼠的气道炎症。血管内皮生长因子是近年来发现的一种具有高度特异性的细胞因子,其表达水平的升高可导致血管内皮细胞通透性增加和炎症细胞浸润^[28],而长期的气道慢性炎症可促进血管内皮生长因子合成和分泌。Hoshino M等^[29]研究发现,慢性支气管炎合并哮喘患者体内血管内皮生长因子水平明显升高,可进一步引起血浆蛋白外渗,从而加重气道重塑及慢性炎症性气道疾病。本研究网络分析和核心靶点分析结果显示,TFH有效成分对慢性支气管炎的防治作用主要与调节气道炎症反应(MAPK1)、抑制气道黏液分泌(EGFR)、调控细胞增殖及凋亡(PIK3CG、AKT1)等靶点密切相关,涉及Fc epsilon RI 信号通路、血管内皮生长因子信号通路和丝裂原激活的蛋白激酶信号通路等多个通路。

综上所述,本研究借助网络药理学研究方法,对TFH防治慢性支气管炎的多成分、多靶点、多途径的潜在作用机制进行了分析。结果表明,TFH有效成分槲皮素、表儿茶素、槲皮素-3-甲基醚等可能通过Fc epsilon RI 信号通路、丝裂原激活的蛋白激酶信号通路、血管内皮生长因子信号通路等作用MAPK1、PIK3CG、AKT1等靶点,进而发挥对慢性支气管炎的防治作用,为沙棘及TFH的进一步开发利用提供了参考。但由于网络药理学主要依赖现有文献和生物数据库,故可用数据源具有一定的局限性;加之该学科着重于定性分析,在药物有效成分及作用靶点的分布差异等生物网络分析和定量检测方面还有所欠缺^[30-31],故本研究结论可能存在一定的片面性,仍有待后续研究进一步证实。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社,2015:184.
- [2] 白若杂纳.月王药珍:2012年版[M]. 毛继祖,马世林,译. 上海:上海科学技术出版社:2012:67.
- [3] 藏医药理学编写小组. 藏医药理学[M].北京:民族出版社,2004:189.
- [4] 蒂玛尔·丹增彭措. 晶珠本草[M]. 毛继祖,罗尚达,王振华,等,译. 上海:上海科学技术出版社,1986:65.
- [5] 多步杰. 藏医内科学[M].北京:民族出版社,2004:188-189.
- [6] 尹永芹,黄峰,黄永昌. 东风桔对大鼠慢性支气管炎的治疗作用及其机制研究[J]. 中草药,2014,45(19):2809-2813.
- [7] 许晖. 慢性支气管与年龄、吸烟的关系[J]. 中国医药导报,2008,5(31):157-158.
- [8] 董长林. 吸烟与慢性支气管的相关性研究[J]. 江苏预防医学,2000,11(2):19.
- [9] MORELLE W, SUTTON-SMITH M, MORRIS HR, et al.

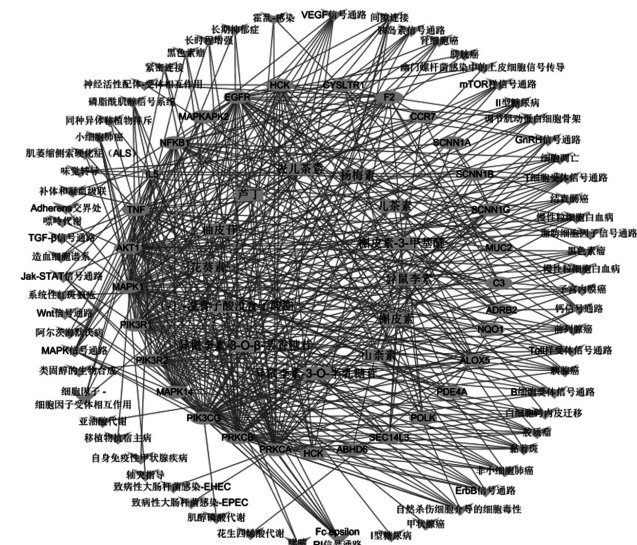


图2 TFH有效成分防治慢性支气管炎的“成分-靶点-通路”网络

Fig 2 TFH “component-target-pathway” network for the prevention and treatment of chronic bronchitis

表3 节点度值、中介中心性排名前10位的信号通路及其网络拓扑学参数

Tab 3 Top 10 signaling pathway in the list of node degree and intermediary centrality as well as their network topology parameters

序号	信号通路	节点度值	中介中心性
1	Fc epsilon RI 信号通路	10	0.002 0
2	血管内皮生长因子信号通路	9	0.001 1
3	丝裂原激活的蛋白激酶信号通路	9	0.001 1
4	T细胞受体信号通路	9	$5.561 8 \times 10^{-4}$
5	黏着斑	8	$9.492 8 \times 10^{-4}$
6	自然杀伤细胞介导的细胞毒性	8	$9.492 8 \times 10^{-4}$
7	ErbB 信号通路	8	$6.810 9 \times 10^{-4}$
8	非小细胞肺癌	8	$6.810 9 \times 10^{-4}$
9	胶质瘤	8	$6.810 9 \times 10^{-4}$
10	Toll样受体信号通路	8	$2.991 2 \times 10^{-4}$

表4 节点度值、中介中心性排名前16位的靶点及其网络拓扑学参数

Tab 4 Top 16 targets in the list of node degree and intermediary centrality as well as their network topology parameters

序号	靶点	节点度值	中介中心性	序号	靶点	节点度值	中介中心性
1	MAPK1	52	0.214 7	9	PIK3R2	33	0.019 9
2	PIK3CG	48	0.135 5	10	MAPK14	24	0.032 4
3	AKT1	40	0.109 5	11	NFKB1	24	0.026 3
4	PIK3R1	39	0.040 7	12	F2	18	0.048 8
5	EGFR	38	0.088 4	13	PTK2B	18	0.013 3
6	PRKCA	36	0.110 8	14	IL5	17	0.040 5
7	PRKCB	36	0.089 5	15	ALOX5	13	0.054 2
8	TNF	34	0.164 4	16	HCK	13	0.019 5

蛋白的磷酸化水平有关,通过抑制该通路的活性,可降低上述两种蛋白的磷酸化水平,从而缓解LPS诱导的慢

- FAB-MS characterization of sialyl Lewis x determinants on polyactosamine chains of human airway mucins secreted by patients suffering from cystic fibrosis or chronic bronchitis[J]. *Glycoconj J*, 2001, 18(9): 699-708.
- [10] 李旻辉, 刘勇, 廉永善, 等. 沙棘[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2016: 98.
- [11] HOPKINS AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(11): 682-690.
- [12] ZHANG Y, MAO X, GUO Q, et al. Network pharmacology-based approaches capture essence of Chinese herbal medicines[J]. *Chin Herbal Med*, 2016, 8(2): 107-116.
- [13] NAIR MP, MAHAJAN S, REYNOLDS JL, et al. The flavonoid quercetin inhibits proinflammatory cytokine (tumor necrosis factor alpha) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via modulation of the NF-kappa beta system.[J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2006, 13(3): 319-328.
- [14] 阮洪生, 牟晋珠. 表儿茶素对脂多糖诱导RAW264.7细胞分泌炎症因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(4): 159-163.
- [15] PARK SH, GONG JH, CHOI YJ, et al. Kaempferol inhibits endoplasmic reticulum stress-associated mucus hypersecretion in airway epithelial cells and ovalbumin-sensitized mice[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0143526.
- [16] 滕丹, 栾新尧. 异鼠李素的药效学研究进展[J]. 中医药临床杂志, 2016, 28(4): 593-596.
- [17] KIM SH, PEI QM, JIANG P, et al. Role of licochalcone A in VEGF-induced proliferation of human airway smooth muscle cells: implications for asthma[J]. *Growth Factors*, 2017, 35(1): 39-47.
- [18] 邹亚, 郭盛, 景晓平, 等. 清肺口服液通过ERK1/2通路调控RSV所致呼吸道炎症损伤的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(2): 86-91.
- [19] KÄCHELE M, HENNIGE AM, MACHANN J, et al. Variation in the phosphoinositide 3-kinase gamma gene affects plasma HDL-cholesterol without modification of metabolic or inflammatory markers[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144494.
- [20] 莫碧文, 王昌明, 张珍祥, 等. 磷脂酰肌醇3激酶促进支气管哮喘大鼠气道平滑肌细胞增殖[J]. 基础医学与临床, 2006, 26(5): 489-493.
- [21] 陈景德. 化痰方对慢性支气管炎大鼠EGFR合成黏蛋白MUC5AC影响的研究[D]. 武汉: 湖北中医学院, 2005.
- [22] LEE HM, TAKEYAMA K, DABBAGH K, et al. Agarose plug instillation causes goblet cell metaplasia by activating EGF receptors in rat airways[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2000, 278(1): 185-192.
- [23] 唐策, 文检, 杨娟, 等. 藏药翼首草抗类风湿性关节炎活性成分靶点的网络药理学研究[J]. 中国药房, 2017, 28(19): 2666-2670.
- [24] 魏志成, 童东, 杨娟, 等. 基于网络药理学的沙棘总黄酮治疗心肌缺血的作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1238-1244.
- [25] VALENTA R. The future of antigen-specific immunotherapy of allergy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(6): 446-453.
- [26] WU K, BI Y, SUN K, et al. IL-10-producing type 1 regulatory T cells and allergy[J]. *Cell Mol Immunol*, 2007, 4(4): 269-275.
- [27] 孟晓明. 枇杷叶三萜酸对慢性支气管炎防治作用的部分机制研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2008.
- [28] 牛欢, 丁毅鹏. VEGF在COPD发病机制中的研究进展[J]. 海南医学, 2015, 26(8): 1183-1186.
- [29] HOSHINO M, TAKAHASHI M, TAKAI Y, et al. Inhaled corticosteroids decrease vascularity of the bronchia mucosa in patients with asthma [J]. *Clin Exp Allergy*, 2001, 31(5): 722-730.
- [30] LEIL TA, ERMAKOV S. Editorial: the emerging discipline of quantitative systems pharmacology[J]. *Front Pharmacol*, 2015. DOI: 10.3389/fphar.2015.00129.
- [31] ALLERHEILIGEN SR. Next-generation model-based drug discovery and development: quantitative and systems pharmacology[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2010, 88(1): 135-137.

(收稿日期: 2018-05-10 修回日期: 2018-10-18)

(编辑: 张元媛)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊, 欢迎投稿、订阅