

基于网络药理学的辛夷-苍耳子药 对治疗变应性鼻炎作用机制探讨*

张璐¹ 赵菲¹ 刘珍珍¹ 韦克克¹ 郭素香³ 丁辉^{1,2,**}

(1. 陕西中医药大学第二附属医院儿童医院, 陕西 咸阳 712000; 2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712000;
3. 天津中医药大学第二附属医院, 天津 300250)

摘要:目的 基于网络药理学方法,探讨经典中药药对“辛夷-苍耳子”治变应性鼻炎的分子作用机制。
方法 从TCMSP数据库、Uniprot数据库、Gene Cards数据库获取“辛夷-苍耳子”药对相关的化学成分信息,药物动力学信息及变应性鼻炎的靶标基因。通过 STRING 网站构建靶标基因间蛋白互作网络关系;采用 Cytoscape 软件构建药对—活性成分—靶标基因网络、核心靶标基因互作网络;将筛选出的靶点信息通过 Metascape 数据库进行 GO 生物功能和 KEGG 通路富集分析。**结果** 苍耳子、辛夷药对中的主要成分芦荟大黄素、豆甾醇等依靠 NOS3、TNF、CASP3 等靶点相互作用,分子功能涉及 G 蛋白耦联(胺类)受体活性, RNA 聚合酶 II 基础转录因子结合,蛋白酶结合,血红素结合,整合素结合。**结论** 辛夷-苍耳子药对在变应性鼻炎治疗中疗效确切,对应靶点及信号通路多样化。其作用机制可能与单独或联合调节钙信号通路,5-羟色胺能突触,激活 VEGF 信号通路、TRP 炎症介质调节通路、雌激素信号通路有关。

关键词:网络药理学;变应性鼻炎;“辛夷-苍耳子”药对;靶点预测;作用机制

中图分类号:R765.21 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1340(2021)06-0073-11

DOI:10.13424/j.cnki.jsctcm.2021.06.016

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR),又可称为过敏性鼻炎,是机体与变应原接触后,由免疫球蛋白(IgE)介导免疫活性细胞及细胞因子,以发作性喷嚏、流涕和鼻塞为主要症状的慢性炎性鼻粘膜病变^[1]。本病主要以鼻痒、鼻塞、流涕、喷嚏为主要症状。随着社会的发展,生活环境的改变,其发病率越来越高,近年来研究表明,变应性鼻炎发病的机制主要是由于 Th1、Th2 细胞免疫失衡引起^[2]。根据诊疗指南来看,西医对本病的治疗主要有规避过敏原、口服药物治疗、特异性免疫治疗和抗 IgE 治疗等。但是由于用药安全、依从性不高等问题,疗效往往会受到影响。中医根据其症状和体征,将其归属于“鼻鼽”范畴。“鼻鼽”一词最早见于《素问·脉解篇》“所谓客孙脉,则……鼻鼽”。医圣张仲景认为本病是由寒邪入侵,肺气不宣,津液输布失司导致,刘完素继承并发展了这一观点,

指出鼽病的症状为“鼻出清涕”,其致病因素以风寒为主,这为后世中医普遍认为的鼻鼽的发病机制主要是风寒的观点奠定了理论基础。如明清名医张璐基于此观点提出了:“鼻鼽,鼻出清涕也,风寒伤皮毛”的论述。在浩瀚的中医历史发展长河中,基于风寒致病这一观点,历代医家结合自身临床经验和对疾病的时代特征的不同认识,又提出了燥、热、湿等亦可导致鼻鼽发病的观点,如皇甫中《明医指掌·卷八·鼻证》曰:“肺热,鼻塞流清水。”

中医认为肺是功能之肺,是以肺为中心的生理系统,它上通天气,下连肾脏,中开窍于鼻,若肺气不利,鼻窍通畅,但若感受风、寒等外邪,肺气失司,则鼻塞流涕。同时,基于五脏相生相克的理论,肺脏与脾脏、肾脏密切相关,肾为先天之主,脾为后天之主,若脾肾功能受损,必然导致肺脏虚

* 基金项目:陕西中医药大学领军人才培养项目—丁辉(306-17102032101)

** 通讯作者:丁辉,副主任医师。E-mail:huidingah@163.com

损,进而出现正气不足,腠理疏松,卫表不固等症状,邪气趁虚而入,侵袭鼻窍则发病。由此可见,中医认为变应性鼻炎的主要病位在肺脏,另外还与肾、脾胃等脏腑相关。

中医药是中华民族代代传承的瑰宝,它以整体观念为依托,辨证论治,在临床诊疗中优势显著。基于以上中医对变应性鼻炎认识的理论基础及相关中药、方剂配伍理论,中医临床中常将辛夷和苍耳子两味药或单独应用、或相须搭配,或与他药组合用于复方,是中医治疗变应性鼻炎的常用药,两药均有着疏风散寒、宣通鼻窍的功效。然而作为药物单体来讲,在变应性鼻炎的治疗中虽有相当的疗效,但作用较弱;而二者配伍,相须相使,在变应性鼻炎的治疗中则具有组成成分丰富、作用靶点多样化、作用信号通路广泛等优势,大大增加了变应性鼻炎的治疗效果。天津市名老中医任宝成教授常采用苍耳子、辛夷药对为基础,配以疏风宣肺中药对患者进行辨证施治,临床疗效确切,所以在治疗变应性鼻炎时通常采用辛夷-苍耳子这一药对,故而,进一步挖掘辛夷-苍耳子药对的作用机制对临床治疗有着实际意义。网络药理学这一概念于 2007 年被提出,其定义主要是指采用网络方法分析药物、疾病和靶点之间的“多成分—多靶点—多途径”^[3]。并且它具有整体性、系统性和注重药物之间相互作用的三大特点,恰好与中医学的整体观、辨证论治相符合^[4]。所以本研究以网络药理学为方法,通过获取辛夷-苍耳子药对的有效化合物及靶点,分析其治疗 AR 的可能机制。

1 研究对象

1.1 中药化学成分数据采集 以 TCMSP 数据库(西北农林科技大学王永华教授课题组开发, <http://tcmispw.com/tcmisp.php>)为研究范围,以辛夷-苍耳子药对为研究对象,采集与本课题相关的中药化学成分信息,药物动力学信息(ADME),即吸收(absorption)、分布(distribution)、代谢(metabolism)及排泄(excretion)。

1.2 变应性鼻炎疾病靶点的基因数据采集 以 UniProt 数据库(<http://www.uniprot.org>)数据库中的 UniProtKB 搜索功能对不同来源的基因靶点进行检索,得到所有靶点的 official gene symbol;以 Gene Cards 数据库(The Human Gene Database, <https://www.genecards.org/>)为研究范围,搜索关

键词“allergic rhinitis”,获得变应性鼻炎的靶标基因,用于后续分析。

2 研究方法

2.1 中药有效化学成分筛选 ①基于 ADME 信息进行中药有效成分筛选,确定有高度活性的关键化合物。筛选标准为:OB 值(Oral bioavailability) $\geq 30\%$, DL 值(Drug-likeness) $\geq 18\%$ ^[5];②结合文献,进一步联合口服生物利用度(OB 值)以及药物相似性(DL 值),筛选靶点蛋白,并尝试对化合物的药物动力学进行预测。

2.2 靶点蛋白基因名转化 以靶点蛋白名为研究对象,以 UniProt 数据库(<http://www.uniprot.org>)为研究范围,将靶点蛋白名转化为靶点基因名。

2.3 靶点预测 基于配体预测(化学相似性搜索和药效团模型)的研究方法^[6-7]。①以 TCMSP 数据库为研究范围,采集中药化学成分对应的靶点基因,去除重复项;②以 Gene Cards 数据库(The Human Gene Database, <https://www.genecards.org/>)为研究范围,搜索关键词“allergic rhinitis”,点击搜索以获得变应性鼻炎的靶点基因。将辛夷和苍耳子作用靶点与变应性鼻炎病变靶点基因进行配比,利用 Excel 删除重复项,以筛选出两者的共同靶点,进而预测这些靶点为该药对治疗变应性鼻炎的潜在靶点。

2.4 互作网络(PPI)的构建 为探索靶点蛋白之间的相互作用,把辛夷、苍耳子治疗变应性鼻炎的相关作用靶点上传至在线 STRING 数据库(<http://stringdb.org>),选择物种为“Homo sapiens”,设置最低相互作用阈值为“medium confidence”,combined score 不做筛选,下载其 TSV 格式文件后导入 Cytoscape 3.7.2 软件进行可视化。

2.5 “药物—成分—疾病—靶点”交集网络构建

①将前期通过 Excel 筛选出的辛夷、苍耳子作用靶点与变应性鼻炎疾病靶点基因相互映射,筛选出共同的活性靶点;②运用 Cytoscape 3.7.2 软件得到“辛夷、苍耳子有效成分化合物—过敏性鼻炎疾病靶点”网络图;③将前期应用 STRING 数据库匹配成功的 TSV 文件导入 Cytoscape 3.7.2 软件,并进行网络拓扑分析,保存,用于后续分析。

2.6 基于 Metascape 的 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析 将筛选出的“辛夷-苍耳子”

药对核心靶点基因输入 Metascape 数据库 (<https://metascape.org/gp/index.html>), 勾选“Multiple Gene List”, 选择物种为“H. sapiens”, 选择“Custom Analyze”, 下载后得到“GO Molecular Functions”和“KEGG Pathway”, 得到富集分析图。

3 结果

3.1 药对有效化学成分筛选结果

表 1 辛夷有效化学成分

药物	MOL ID	化合物名称	OB 值	DL 值
辛夷	MOL012112	36150-23-9	34.73	0.73
辛夷	MOL012119	(1 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i>)-3-allyl-6-(3,4-dimethoxyphenyl)-1-methoxy-7-methylbicyclo[3.2.1]oct-2-ene-4,8-dione	61.56	0.36
辛夷	MOL012120	(1 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i>)-3-allyl-6-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-methoxy-7-methylbicyclo[3.2.1]oct-2-ene-4,8-dione	58.79	0.41
辛夷	MOL012123	denudanolide a	31.19	0.46
辛夷	MOL012124	denudanolide b	100.06	0.36
辛夷	MOL012125	denudanolide c	62.56	0.39
辛夷	MOL012126	denudanolide d	51.28	0.47
辛夷	MOL012129	5-[(1 <i>R</i> ,3 <i>aR</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>aR</i>)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-1,3,3 <i>a</i> ,4,6,6 <i>a</i> -hexahydrofuro[4,3- <i>c</i>]furan-1-yl]-1,3-benzodioxole	55.61	0.73
辛夷	MOL012130	(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aS</i>)-7-allyl-2-(1,3-benzodioxol-5-yl)-3 <i>a</i> ,4-dimethoxy-3-methyl-2,3,7,7 <i>a</i> -tetrahydrobenzofuran-6-one	59.37	0.51
辛夷	MOL012131	isodihydrofutoquinol a	60.54	0.36
辛夷	MOL012136	5-[(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-(3,4-dimethoxyphenyl)-3,4-dimethyl-2-tetrahydrofuran-yl]-1,3-benzodioxole	60.11	0.45
辛夷	MOL012137	magnolone	50.56	0.55
辛夷	MOL000310	Denudatin B	61.47	0.38
辛夷	MOL000313	Galgravin	57.12	0.39
辛夷	MOL000314	(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-2,5-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,4-dimethyltetrahydrofuran	57.12	0.39
辛夷	MOL000315	hancinone	39.31	0.44
辛夷	MOL007563	Yangambin	57.53	0.81
辛夷	MOL009849	ZINC05223929	31.57	0.83
辛夷	MOL001494	Mandenol	42	0.19

表 2 苍耳子有效化学成分

药物	MOL ID	化合物名称	OB 值	DL 值
苍耳子	MOL011676	carboxyatractyloside	39.97	0.47
苍耳子	MOL011678	(3 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> ,13 <i>R</i> ,14 <i>S</i> ,17 <i>R</i>)-17-[(1 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-ethyl-1,5-dimethylhexyl]-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1 <i>H</i> -cyclopenta[<i>a</i>]phenanthren-3-ol	36.91	0.75
苍耳子	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
苍耳子	MOL000471	aloe-emodin	83.38	0.24
苍耳子	MOL007326	Cynarin(e)	31.76	0.68
苍耳子	MOL000011	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-5-methoxy-2-methylol-2,3-dihydropyrano[5,6- <i>h</i>][1,4]benzodioxin-9-one	68.83	0.66
苍耳子	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
苍耳子	MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76
苍耳子	MOL001755	24-Ethylcholest-4-en-3-one	36.08	0.76
苍耳子	MOL008647	Moupinamide	86.71	0.26
苍耳子	MOL011169	Peroxyergosterol	44.39	0.82

3.2 靶点蛋白的基因名转化 通过 UniProt 数据库,将上述 30 种化合物作用靶点的蛋白质名转化成基因靶点名,如表 3。辛夷(表中用 XY 代替)19 种有效成分中有 15 种可以找到对应基因靶点,共

112 个基因靶点信息;苍耳子(表中用 CEZ 代替)11 种有效成分中有 7 种可以找到对应基因靶点,共 100 个基因靶点信息。

表 3 化合物蛋白靶点名和基因靶点名转换

化合物	MOL ID	TAR	化合物	MOL ID	TAR
XY1	MOL012112	KCNH2	XY14	MOL009849	PTGS2
XY1	MOL012112	SCN5A	XY14	MOL009849	F10
XY1	MOL012112	F10	XY14	MOL009849	RXRA
XY1	MOL012112	PTGS2	XY15	MOL001494	PTGS1
XY1	MOL012112	ADRB2	XY15	MOL001494	PTGS2
XY2	MOL012119	SCN5A	XY15	MOL001494	NCOA2
XY2	MOL012119	F10	CEZ1	MOL011678	PGR
XY2	MOL012119	PTGS2	CEZ1	MOL011678	NCOA2
XY2	MOL012119	ADRA1B	CEZ2	MOL000359	PGR
XY2	MOL012119	GABRA1	CEZ2	MOL000359	NCOA2
XY2	MOL012119	NCOA2	CEZ2	MOL000359	NR3C2
XY3	MOL012120	PTGS1	CEZ3	MOL000471	PTGS1
XY3	MOL012120	CHRM1	CEZ3	MOL000471	PTGS2
XY3	MOL012120	SCN5A	CEZ3	MOL000471	PIK3CG
XY3	MOL012120	PTGS2	CEZ3	MOL000471	PRKACA
XY3	MOL012120	RXRA	CEZ3	MOL000471	PKIA
XY3	MOL012120	GABRA1	CEZ3	MOL000471	CDKN1A
XY4	MOL012123	NOS2	CEZ3	MOL000471	EIF6
XY4	MOL012123	PTGS1	CEZ3	MOL000471	BAX
XY4	MOL012123	KCNH2	CEZ3	MOL000471	TNF
XY4	MOL012123	ESR1	CEZ3	MOL000471	CASP3
XY4	MOL012123	AR	CEZ3	MOL000471	TP53
XY4	MOL012123	SCN5A	CEZ3	MOL000471	FASN
XY4	MOL012123	PTGS2	CEZ3	MOL000471	PRKCA
XY4	MOL012123	PDE3A	CEZ3	MOL000471	PRKCE
XY4	MOL012123	GSK3B	CEZ3	MOL000471	PCNA
XY4	MOL012123	CHEK1	CEZ3	MOL000471	MYC
XY5	MOL012124	PTGS1	CEZ3	MOL000471	IL1B
XY5	MOL012124	ESR1	CEZ3	MOL000471	PRKCD
XY5	MOL012124	AR	CEZ3	MOL000471	CCNB1
XY5	MOL012124	SCN5A	CEZ4	MOL000011	NOS2
XY5	MOL012124	PTGS2	CEZ4	MOL000011	KCNH2
XY5	MOL012124	PDE3A	CEZ4	MOL000011	ESR1
XY5	MOL012124	GSK3B	CEZ4	MOL000011	AR

续表 3 化合物蛋白靶点名和基因靶点名转换

化合物	MOL ID	TAR	化合物	MOL ID	TAR
XY5	MOL012124	CHEK1	CEZ4	MOL000011	SCN5A
XY5	MOL012124	CCNA2	CEZ4	MOL000011	F10
XY6	MOL012125	NOS2	CEZ4	MOL000011	PTGS2
XY6	MOL012125	CHRM3	CEZ4	MOL000011	NOS3
XY6	MOL012125	ESR1	CEZ4	MOL000011	KDR
XY6	MOL012125	AR	CEZ4	MOL000011	DPP4
XY6	MOL012125	SCN5A	CEZ4	MOL000011	PRSS1
XY6	MOL012125	PTGS2	CEZ4	MOL000011	NCOA1
XY6	MOL012125	ACHE	CEZ4	MOL000011	KCNMA1
XY6	MOL012125	PDE3A	CEZ5	MOL000358	PGR
XY6	MOL012125	ADRA1B	CEZ5	MOL000358	NCOA2
XY6	MOL012125	GSK3B	CEZ5	MOL000358	PTGS1
XY6	MOL012125	CHEK1	CEZ5	MOL000358	PTGS2
XY6	MOL012125	PRSS1	CEZ5	MOL000358	PIK3CG
XY7	MOL012126	NOS2	CEZ5	MOL000358	KCNH2
XY7	MOL012126	ESR1	CEZ5	MOL000358	PRKACA
XY7	MOL012126	AR	CEZ5	MOL000358	DRD1
XY7	MOL012126	SCN5A	CEZ5	MOL000358	CHRM1
XY7	MOL012126	PTGS2	CEZ5	MOL000358	SCN5A
XY7	MOL012126	ACHE	CEZ5	MOL000358	GABRA2
XY7	MOL012126	PRSS1	CEZ5	MOL000358	CHRM4
XY7	MOL012126	CACNA1S	CEZ5	MOL000358	PDE3A
XY7	MOL012126	NCOA2	CEZ5	MOL000358	HTR2A
XY8	MOL012130	PTGS1	CEZ5	MOL000358	GABRA5
XY8	MOL012130	SCN5A	CEZ5	MOL000358	ADRA1A
XY8	MOL012130	PTGS2	CEZ5	MOL000358	GABRA3
XY8	MOL012130	PRSS1	CEZ5	MOL000358	CHRM2
XY8	MOL012130	NCOA1	CEZ5	MOL000358	ADRA1B
XY9	MOL012131	PTGS1	CEZ5	MOL000358	ADRB2
XY9	MOL012131	CHRM3	CEZ5	MOL000358	CHRNA2
XY9	MOL012131	KCNH2	CEZ5	MOL000358	SLC6A4
XY9	MOL012131	CHRM1	CEZ5	MOL000358	OPRM1
XY9	MOL012131	SCN5A	CEZ5	MOL000358	GABRA1
XY9	MOL012131	CHRM5	CEZ5	MOL000358	BCL2
XY9	MOL012131	PTGS2	CEZ5	MOL000358	BAX
XY9	MOL012131	RXRA	CEZ5	MOL000358	CASP9
XY9	MOL012131	ACHE	CEZ5	MOL000358	JUN
XY9	MOL012131	PDE3A	CEZ5	MOL000358	CASP3

续表 3 化合物蛋白靶点名和基因靶点名转换

化合物	MOL ID	TAR	化合物	MOL ID	TAR
XY9	MOL012131	ADRA1B	CEZ5	MOL000358	CASP8
XY9	MOL012131	ADRB2	CEZ5	MOL000358	PRKCA
XY10	MOL012137	KCNH2	CEZ5	MOL000358	TGFB1
XY10	MOL012137	F10	CEZ5	MOL000358	PON1
XY10	MOL012137	PTGS2	CEZ5	MOL000358	MAP2
XY10	MOL012137	NCOA1	CEZ6	MOL000449	PGR
XY11	MOL000313	CHRM3	CEZ6	MOL000449	NR3C2
XY11	MOL000313	CHRM1	CEZ6	MOL000449	NCOA2
XY11	MOL000313	ESR1	CEZ6	MOL000449	ADH1C
XY11	MOL000313	SCN5A	CEZ6	MOL000449	RXRA
XY11	MOL000313	PTGS2	CEZ6	MOL000449	NCOA1
XY11	MOL000313	ADRA2C	CEZ6	MOL000449	PTGS1
XY11	MOL000313	RXRA	CEZ6	MOL000449	PTGS2
XY11	MOL000313	ADRA1B	CEZ6	MOL000449	ADRA2A
XY11	MOL000313	SLC6A3	CEZ6	MOL000449	SLC6A2
XY11	MOL000313	ADRB2	CEZ6	MOL000449	SLC6A3
XY11	MOL000313	NCOA2	CEZ6	MOL000449	ADRB2
XY11	MOL000313	KCNH2	CEZ6	MOL000449	PLAU
XY11	MOL000313	RXRB	CEZ6	MOL000449	LTA4H
XY12	MOL000314	CHRM3	CEZ6	MOL000449	MAOB
XY12	MOL000314	KCNH2	CEZ6	MOL000449	MAOA
XY12	MOL000314	CHRM1	CEZ6	MOL000449	CTRB1
XY12	MOL000314	ESR1	CEZ6	MOL000449	CHRM3
XY12	MOL000314	SCN5A	CEZ6	MOL000449	CHRM1
XY12	MOL000314	PTGS2	CEZ6	MOL000449	ADRB1
XY12	MOL000314	ADRA1B	CEZ6	MOL000449	SCN5A
XY12	MOL000314	SLC6A3	CEZ6	MOL000449	HTR2A
XY12	MOL000314	NCOA2	CEZ6	MOL000449	ADRA1A
XY13	MOL007563	KCNH2	CEZ6	MOL000449	GABRA3
XY13	MOL007563	SCN5A	CEZ6	MOL000449	CHRM2
XY13	MOL007563	F10	CEZ6	MOL000449	ADRA1B
XY13	MOL007563	PTGS2	CEZ6	MOL000449	GABRA1
XY13	MOL007563	CACNA1S	CEZ7	MOL001755	PGR
XY13	MOL007563	NCOA2	CEZ7	MOL001755	NR3C2

3.3 靶点预测 将上述转化后的基因靶点通过 Excel 删除重复值后得到相关基因靶点 77 个;采用 Gene Cards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)

检索与变应性鼻炎相关作用靶点,得到 1404 个基因靶点;并将收集到的辛夷-苍耳子相关靶点和疾病靶点对比分析,以此得到有明确治疗变应性鼻

炎的核心靶点 19 个,如表 4 所示。

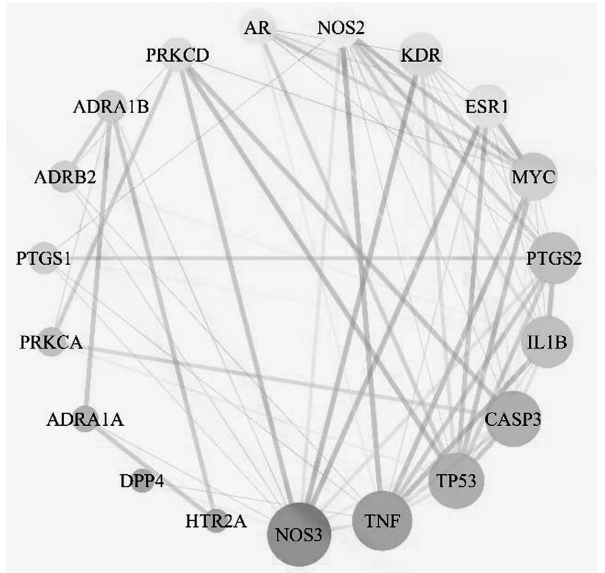
表 4 辛夷-苍耳子药对治疗 AR 的核心靶点

序号	基因名称	靶点
1	PTGS2	Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2
2	ADRB2	Adrenoceptor Beta 2
3	ADRA1B	Adrenoceptor Alpha 1B
4	PTGS1	Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 1
5	NOS2	Nitric Oxide Synthase 2
6	ESR1	Estrogen Receptor 1
7	AR	Arachidonate 5-Lipoxygenase
8	TNF	Tumor Necrosis Factor
9	CASP3	Caspase 3
10	TP53	Tumor Protein P53
11	PRKCA	Protein Kinase C Alpha
12	MYC	MYC Proto-Oncogene, BHLH Transcription Factor
13	IL1B	Interleukin 1 Beta
14	PRKCD	Protein Kinase C Delta
15	NOS3	Nitric Oxide Synthase 3
16	KDR	Kinase Insert Domain Receptor
17	DPP4	Dipeptidyl Peptidase 4
18	HTR2A	5-Hydroxytryptamine Receptor 2A
19	ADRA1A	Adrenoceptor Alpha 1A

3.4 蛋白互作网络(PPI) 将 19 个明确治疗变应性鼻炎的靶点信息录入 STRING 平台构建蛋白互作网络,该 PPI 网络中共有靶蛋白节点 19 个,靶蛋白相互之间连线 74 条,平均度值为 7.79,平均介数 0.725;运用 Cytoscape 3.7.2 软件构建辛夷、苍耳子成分-变应性鼻炎疾病核心靶点网络图,如

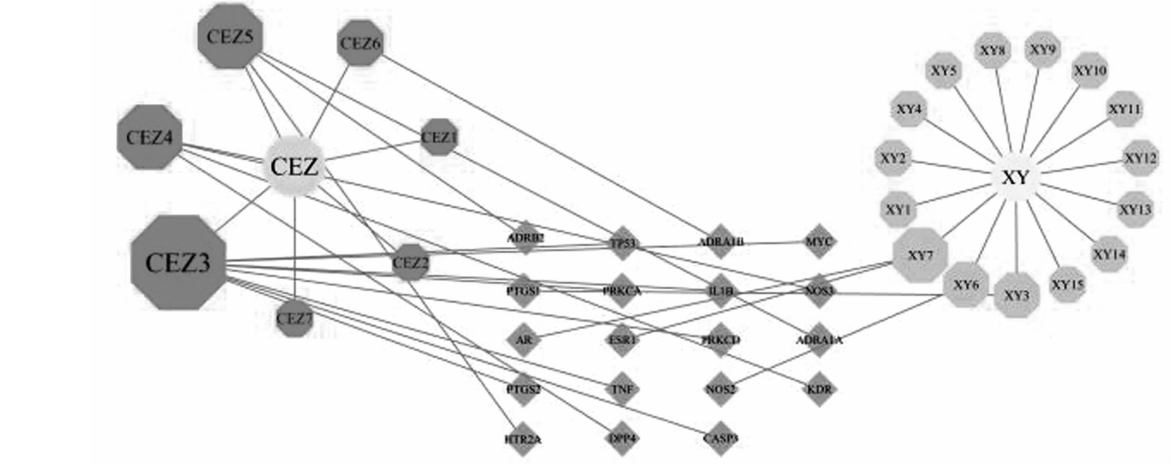
图 1。

3.5 “药物-有效成分-核心靶点”交集网络构建 将药对有效成分及核心靶点相关信息导入 Cytoscap3.7.2 软件,绘制“药物—有效成分—核心靶点”网络图(如图 2)。由图可知:节点颜色越深、连线越密集,该靶点越重要,说明其可能是更为核心的靶点,依此可以清晰的看到各有效成分与核心靶点之间的相互作用关系;另外,从图中还可以发现药对有效成分与靶点之间并非一一对应关系,而是构成了错综复杂的网络体系,这揭示了二者之间多成分、多靶点之间的交互作用关系。



注:蓝色圆形代表苍耳子有效成分对应的疾病核心靶点,粉色圆形代表辛夷有效成分应的疾病核心靶点,边代表相互关系

图 1 辛夷-苍耳子药对治疗 AR 的蛋白互作网络图



注:绿色八边形代表苍耳子有效成分,桔色八边形代表辛夷有效成分,蓝色正方形代表靶点蛋白,边代表相互关系

图 2 “辛夷-苍耳子”药对相关靶点网络图

3.6 生物功能和通路富集分析

3.6.1 GO 生物功能富集分析 将筛选出的靶点信息通过 Metascape 数据库进行 GO 生物功能富集分析。设定以 Min Overlap 3, Pvalue < 0.01, Min Enrichment 1.5 为条件进行分析,最终获得生物过程 (Biological process, BP) 相关功能信息 18 条,细胞组分 (Cellular Compont, CC) 相关功能信息 3 条,分子功能 (Molecular Function, MF) 相关通路 5 条 (如图 4)。生物过程涉及 MAPK 级联调节,细胞增殖负调节,血压调节,细胞对药物的反应,胶质细胞凋亡过程,产热,细胞增殖的负调节,细胞对有毒物质的反应,细胞对缺氧的分解反应,血管内皮细胞的正调节迁移,细胞—细胞粘附的调节,前列腺素生物合成过程,蛋白质脱蛋白,细胞对有机环类化合物的反应,节律性进程,细胞内信号转导的负调控,嘌呤核苷酸代谢过程的调节,自噬的调节等;细胞组分涉及膜筏,核膜,溶解液泡等;分子功能涉及 G 蛋白耦联(胺类)受体活性, RNA 聚合酶 II 基础转录因子结合,蛋白酶结合,血红素结合,整合素结合等。

3.6.2 KEGG 通路富集分析 通过 Metascape 数

据库,以 $P < 0.01$ 进行筛选,得到 7 条信号通路 (图 4),其中和疾病相关的有:钙信号通路,5-羟色胺能突触, VEGF 信号通路, TRP 炎症介质调节通路,雌激素信号通路;说明药对有效成分可通过调节上述信号通路治疗变应性鼻炎。

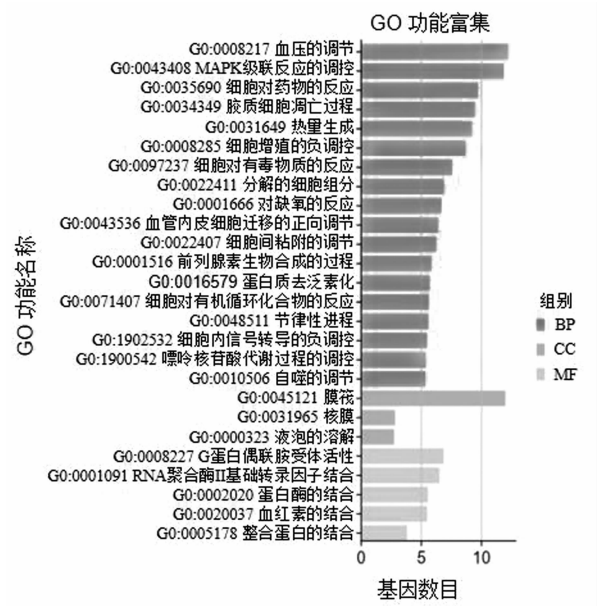


图 3 GO 功能富集分析条形图

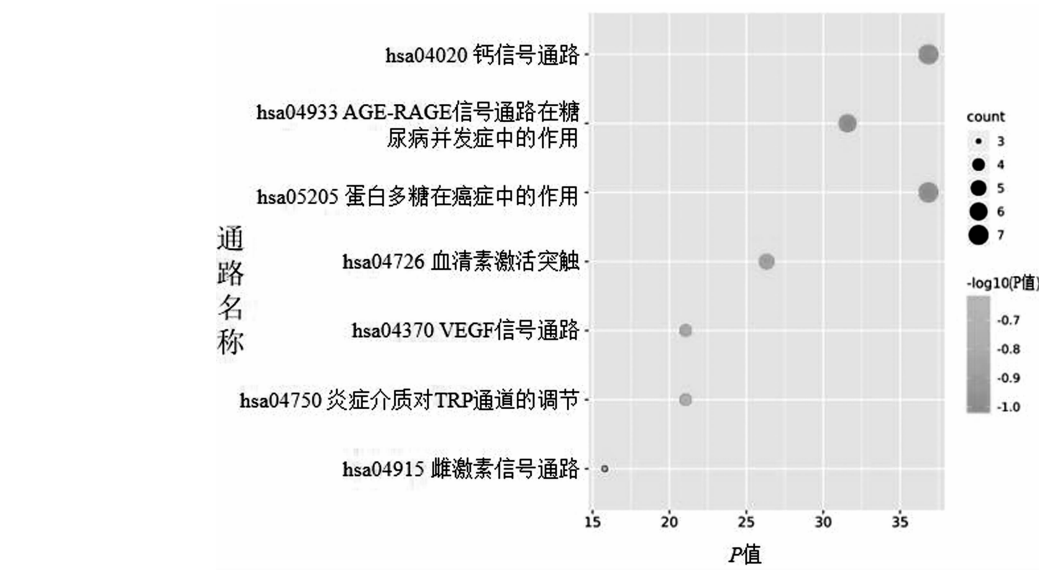


图 4 药对有效成分潜在核心靶点 KEGG 通路富集分析图

4 讨论

“辛夷-苍耳子”药对治疗变应性鼻炎作用存在复杂网络关系,变应性鼻炎是一种由基因与环境等多因素互相作用而诱发的变态性疾病,可导致许多并发症的发生,进而导致患者丧失劳动力,加重家庭和社会负担,且其发病人数呈不断上升

趋势,因此变应性鼻炎已成目前全球性关注的疾病,在其机制研究及新药研发中的投入不断增加。中医药在治疗变应性鼻炎上有较好疗效,随着研究的不断深入,中医药在变应性鼻炎治疗中的作用被越来越多的挖掘了出来。其中对核心经典的“辛夷-苍耳子”药对的作用及作用机制的研究也

逐步深入。刘小渭通过使用自拟的苍耳止鼽汤,借苍耳子、黄芪、辛夷、防风四药祛邪、培土生金之功,达到治疗变应性鼻炎肺虚感寒证的作用,且总有效率大于对照组的西药治疗^[8]。通过药效学实验得出结论,苍耳子、辛夷配伍后的合煎液,较苍耳子单煎液相比,有减毒作用,且对炎症有明显的增效^[9]。从现代医学微观分子机制层面来看,单味中药发挥具体治疗作用的分子机制不尽相同,基于方剂配伍理论组成药对、复方后的作用机制则更加复杂,因此明确治疗变应性鼻炎相关中药的具体成分及其作用靶点,并结合相关理论加以整合应用,是精准化运用并充分发挥中医药治疗作用的有效途径。基于此,本研究运用网络药理学分析方法,以“辛夷-苍耳子”药对为研究对象,探究分析其所含药物活性成分及在变应性鼻炎的治疗中发挥作用的分子机制。

苍耳子首见于《神农本草经》,言其能“主风头痛,风湿周痹……恶肉死肌。”有祛风、散寒、宣肺、通鼻窍等功效,临床常被用来治疗因风寒外袭导致的头痛、鼻塞、鼻鼽、鼻渊等疾病^[10]。现代药理研究发现,苍耳子有效成分具有抗炎、镇痛、抗过敏的作用,并指出其发挥作用的有效成分主要为水溶性苷类、倍半萜内酯类、挥发油类、脂肪油类、酚酸类及其他化合物^[11-12]。辛夷归属于木兰科木兰亚族木兰属植物,具有疏风散寒、宣通鼻窍的功效,其主要化学成分包括脂溶性类以及水溶性类,具体分为挥发油类、木脂素类、生物碱类等。本研究主要通过网络药理学对苍耳子、辛夷的化学成分、作用靶点及覆盖信号通路进行分析。通过 TC MSP 数据库平台,筛选出理论上口服生物利用度及成分自身活性均较高的化合物 30 种,其中辛夷 19 种,苍耳子 11 种。根据表 3 可以看出,苍耳子中的 MOL000358 (beta-sitosterol)、MOL000449 (Stigmasterol)、MOL000471 (aloe-emodin) 以及辛夷中的 MOL012123 (denudanolide a)、MOL012124 (denudanolide b)、MOL012125 (denudanolide c)、MOL012126 (denudanolide d) 所囊括的靶点相对最多。

研究表明,β 谷甾醇 (beta-sitosterol) 可以通过阻止肿瘤坏死因子 (TNF) 的释放,下调 NF-κB 信号转导通路的活化来达到保护急性肺损伤的作

用^[13]。豆甾醇 (Stigmasterol) 存在于各种植物油、植物种子,是植物甾醇的典型代表。豆甾醇有着广泛的药理作用,如抗氧化、抗肿瘤、抗炎症、降低胆固醇病等^[14]。PANDITH 等通过研究得出,从暹罗杂草提取物中发现的豆甾醇有着明显的抗炎作用,主要机制是通过减弱 LPS (脂多糖) 诱导的环氧合酶-2 (COX-2)、诱导性一氧化氮 (iNOS) mRNA 的表达,减少前列腺素 E2 及一氧化氮的释放^[15]。有研究表明,芦荟大黄素 (aloe-emodin) 是从植物根茎中分离出来的蒽醌类化合物,可通过抑制一氧化氮合酶 (iNOS) mRNA 表达,却又不影响 NOS 活性,从而发挥抗炎作用^[16],同时它还可抑制 COX-2 表达的作用。

通过对其药理学及成分靶点图分析,发现辛夷、苍耳子所含的多种有效化学成分在变应性鼻炎的发生发展中起到了重要作用。而这些有效活性成分是以多成分、多靶点、多通路协同作用的形式来发挥治疗作用的,这正体现了中医诊疗疾病的整体观念思想及辨证论治的遣方用药特点。通过分析“成分—靶点图”及“靶点—通路图”,发现本研究筛选出的 19 个核心靶点涉及了信号传导、细胞周期、免疫系统等多个生物过程,这些都与变应性鼻炎的发生密不可分。一氧化氮 (Nitric oxide NO) 是巨噬细胞等吞噬细胞在炎性因子介导下产生的分子信使及调节因子,分泌后会使得肥大细胞释放递质,导致平滑肌细胞松弛并增加了血管扩张通透性,进而导致鼻腔内肿胀,造成鼻塞等一系列变应性鼻炎症状。一氧化氮合酶 (Nitric Oxide Synthase), 是一种用来催化一氧化氮产生的酶,其由基因调控,受多种因素影响,可以由机体多种细胞表达。NOS 可分为诱导型 (inducible NOS, i NOS)、内皮型 (endothelial NOS, e NOS) 以及神经元型 (neuronal NOS, n NOS) 3 种亚型,本次研究中我们所发现的靶点主要是内皮型和诱导型,即 NOS3、NOS2。通过图 3 可以看到,NOS3 靶点的颜色最深,经过该节点的连线最密集,所以其有可能是最为核心的靶点。NO 首次被发现存在于人的呼出气中是 1991 年^[17]。目前,NO 作为反映下呼吸道炎症反应程度的标志物已成为共识,在变应性鼻炎的诊疗监测过程中也越来越重要。Suojalehto 等分别检测对照组、AR 组及 NAR 组 n NO,结

果表示 AR 组 n NO 浓度高于其他两组,进一步分析结果后,提出了可以将高水平的 NO 当做鼻腔高嗜酸性粒细胞的标记物的观点^[18]。张邵婕将 152 例中、重度 AR 患者、108 例 NAR 患者作为实验组,125 例健康受试者作为对照组,分别对其进行 n NO 浓度检测,发现 AR 组患者 n NO 浓度为 (693.64 ± 236.62) ppb, NAR 组患者 n NO 浓度为 (430.04 ± 92.15) ppb, 对照组 n NO 浓度为 (400.17 ± 102.59) ppb, AR 组 n NO 浓度明显高于 NAR 组和对照组,并且 AR 组患者血清总 IgE 明显高于其他两组^[19]。这正与本研究结论相一致。TNF 是由巨噬细胞和淋巴细胞产生的一种炎性介质,参与 TH1 介导的炎性反应,可以激活 NF- κ B,从而诱导细胞因子、免疫受体进行表达,进一步参与炎症反应。王金磊等发现肺组织中 NF- κ B 表达下降,哮喘大鼠的气道炎症、肺 I 型上皮损伤的状况得到明显改善^[20]。有研究表明,当机体处于炎症反应时,可诱导巨噬细胞释放大量 TNF- α ,激活中性粒细胞、内皮细胞表面的粘附受体,从而介导炎性因子释放^[21]。张敏通过实验研究发现, NF- κ B 可以通过调整平衡 Th1/Th2 的比例,使两者之间达到平衡状态,则可下调 IgE 的表达,此机制在变应性鼻炎的发生发展过程中起重要作用^[22]。

通过分析靶标基因富集的 KEGG 通路结果,本研究发现辛夷-苍耳子药对主要是通过调节钙信号通路(Calcium signaling pathway)、5-羟色胺能突触(Serotonergic synapse)、VEGF 信号通路(VEGF signaling pathway)、TRP 炎症介质调节通路(Inflammatory mediator regulation of TRP channels)、雌激素信号通路(Estrogen signaling pathway)等信号通路,进而发挥了治疗变应性鼻炎的作用。

VEGF 是其中一条重要的信号通路,主要是因为此通路与 NO 的释放有相互关联。VEGF 是血管内皮特异性的促血管生长因子,可促使内皮细胞的增殖和迁移,调节血管生成,并且使得血管通透性增大,诱导肥大细胞、嗜酸性粒细胞迁移至炎症部位。很多因素都可影响 VEGF 的表达,如雌激素、肿瘤坏死因子等。雌激素信号通路主要是通过调节一氧化氮的合成和释放来参与气道的炎性反应,其次还可通过气道中的集中多种细胞促进 NO 的产生,借以达到扩张血管和松弛气管平滑肌

的作用。除此之外,雌激素还可以激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)来减少组织特异性皮质醇的产生。MAPK 是细胞外信号转导至细胞内部的主要传递者,广泛存在于生物体内,可以在细胞因子、神经递质等外源性刺激下,通过调节相关转录因子,调节基因表达、炎性因子转录,在炎细胞的激活、成熟到分化以及最终的机体免疫过程中都起到重要作用^[23]。有研究表明,MAPK 家族中的 p38MAPK 在各种气道的炎症发生发展中发挥着极为重要的作用^[24]。Jung 等研究总结出,抑制 p38MAPK 信号通路的磷酸化后,炎性递质的产生和释放可明显减少,而且鼻粘膜的损害程度和炎细胞浸润也有所降低^[25]。

综上所述,辛夷-苍耳子药对的主要有效成分豆甾醇、芦荟大黄素等,通过与 NOS3、TNF、CASP3 等靶点相互作用,单独或者联合调节钙信号通路,5-羟色胺能突触,VEGF 信号通路,TRP 炎症介质调节通路,雌激素信号通路,最终在变应性鼻炎中起到治疗作用。

5 小结与展望

本研究基于网络药理学的分析方法,初步筛选出了辛夷-苍耳子药对在变应性鼻炎治疗中的活性成分、作用靶点,并探索了其不同通路之间的关联性,通过分析,发现筛选出的核心靶点涉及了多个与变应性鼻炎的发生密不可分的信号传导、细胞周期、免疫系统等生物过程,这不仅从分子生物学角度证实了辛夷-苍耳子药对在变应性鼻炎中治疗效果的确切性,还从微观层面为中医药在变应性鼻炎中的治疗提供了理论基础与科学依据,更为本团队后期的临床研究和实验室研究奠定了理论基础,期望本研究结果能为变应性鼻炎的临床新型治疗药物的研发提供新的思路 and 方向。

参考文献

- [1] Seidman MD, Gurgel PK, Lin SY, et al. Clinical practice guideline: Allergic rhinitis [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2015, 152(1S): S1-S43.
- [2] Park H, Li Z, Yang XO, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17 [J]. Nat Immunol, 2005, 6(11): 1133-1141.
- [3] Hopkins AL. Network pharmacology [J]. Nat Biotechnol, 2007, 25(10): 1110-1111.

- [4] Liu ZH, Sun XB. Network pharmacology: New opportunity for the modernization of traditional Chinese medicine [J]. Acta Pharm Sin, 2012, 47(6): 696-703.
- [5] Li J, Zhao P, Li Y, et al. Systems pharmacology-based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufeiyishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease [J]. Sci Rep, 2015, 15: 5.
- [6] Wang S, Wang H, Lu Y. Tianfoshen oral liquid: a CFDA approved clinical traditional Chinese medicine, normalizes major cellular pathways disordered during colorectal carcinogenesis [J]. Oncotarget, 2017, 8(9): 14549-14569.
- [7] Yu H, Chen J, Fau-Xu X, et al. A systematic prediction of multiple drug-target interactions from chemical, genomic, and pharmacological data [J]. PLOS One, 2012, 7(5): e37608.
- [8] 王炎. 苍芪止鼾汤治疗小儿变应性鼻炎肺虚感寒证的临床疗效观察 [D]. 太原: 山西中医药大学, 2020.
- [9] 冯紫薇. 苍耳子-辛夷配伍治疗过敏性鼻炎基础研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2009.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [11] Hwang SH, Wang Z, Yoon HN, et al. Xanthium strumarium as an Inhibitor of α glucosidase, protein tyrosine phosphatase 1 β , protein glycation and ABTS + for diabetic and its complication [J]. Molecules, 2016, 21(9): 1241.
- [12] 庄延双, 胡静, 蔡皓, 等. 苍耳子化学成分及药理作用研究进展 [J]. 南京中医药大学学报, 2017, 33(4): 428-432.
- [13] 姚凤, 周清燕, 熊瑛, 等. β -谷甾醇对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用研究 [J]. 中国农学通报, 2015, 31(2): 55-61.
- [14] 杨福明. 大豆甾醇酯的合成及其生物利用率 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2018.
- [15] Pandith H, Zhang X, Thongpraditchote S, et al. Effect of Siam weed extract and its bioactive component scutellarein tetramethyl ether on anti-inflammatory activity through NF- κ B pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2013, (147): 434-441.
- [16] 李晓红, 齐云, 蔡润兰, 等. 芦荟大黄素对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 生成及 iNOS 表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2010, 26(4): 488-492.
- [17] Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, et al. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1991, 181(2): 852-857.
- [18] Suojalehto H, Vehmas T, Lindstrom I, et al. Nasal nitric oxide is dependent on sinus obstruction in allergic rhinitis [J]. Laryngoscope, 2014, 124(6): E213-E218.
- [19] 张邵婕. 鼻呼气一氧化氮浓度与变应性鼻炎的相关性研究及临床意义 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2019.
- [20] 王金磊, 李承德, 孙宏伟, 等. 黄芪多糖抑制 NF- κ B/ MAPK 信号通路和改善哮喘大鼠气道炎症的作用 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(4): 489-493.
- [21] Murdaca G, Spanò F, Contatore M, et al. Infection risk associated with anti-TNF- α agents: a review. Expert Opin Drug Saf, 2015, (14): 571-582.
- [22] 张敏. TLR NF- κ B 信号通路在大鼠变应性鼻炎发病中的作用及雷公藤多甙干预机制的研究 [D]. 福州: 福建医科大学, 2012.
- [23] Adcock IM, Chung KF, Caramori G, et al. Kinase inhibitors and airway inflammation [J]. Eur J Pharmacol, 2006, (533): 118-132.
- [24] 李锋, 周新. P38 丝裂原活化蛋白激酶与慢性气道疾病 [J]. 中华哮喘杂志 (电子版), 2010, 4(4): 234-237.
- [25] Jung HW, Jung JK, Park YK. Antiallergic effect of Ostericum koreanum root extract on ovalbumin-induced allergic rhinitis mouse model and mast cells [J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2011, (29): 338-348.

(收稿日期: 2020-09-27 编辑: 方亚利)