

基于生物信息学分析整合组方规律发掘白脉软膏治疗白脉病的作用机制及其功效组配伍特点

刘毓东, 毛霞*, 张苏雅, 周方婷, 杨菲, 王潇潇, 陶雪莹, 王超, 林娜*
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 基于系统理论思想从网络视角探索白脉软膏治疗白脉病的作用机制及其功效组配伍特点, 为指导临床合理用药提供生物学依据。方法: 利用中医药百科全书数据库(ETCM)和中医药整合药理学研究平台(TCMP)获得白脉软膏的化学成分及对应的候选靶标谱, 根据白脉病的临床病理学特征, 以神经病理性疼痛、炎性疼痛、慢性疼痛和腰椎间盘突出根性神经痛4种疾病/症状为关注点, 在人类表型本体(HPO), DisGeNET等数据库收集白脉病相关的疾病基因集, 构建“白脉软膏活性成分靶标-白脉病相关基因集”相互作用网络, 在此基础上筛选其核心网络节点并进行富集分析, 探讨白脉软膏组方中活血通络组(姜黄、麝香、碱花), 行气止痛组(肉豆蔻、甘松、藏菖蒲), 温经散寒通络组(干姜、花椒、藏茴香)和健脾温肾强骨组(阳起石、甘草)4个功效组配伍治疗白脉病的作用机制。结果: 白脉软膏所含4个功效组富集的通路主要分布于神经系统功能、炎症-免疫系统调节和机体能量代谢3个模块, 各模块间通过共有靶标基因关联又各有侧重。其中, 活血通络组和行气止痛组对神经系统功能的调节作用可概括为活血补气和醒神开窍; 行气止痛组和健脾温肾强骨组主要用于推动机体气机运行, 促进血液化生, 增强机体免疫, 维持炎症-免疫系统的调节; 健脾温肾强骨组和温经散寒通络组主要通过补脾益气及温热药性来调节机体能量代谢; 全方分析侧重挖掘白脉软膏从多维度、多层次干预白脉病的作用机制, 各功效组强调其在神经系统功能、炎症-免疫调节、机体能量代谢中各有侧重的作用特点, 2种网络分析模式相互补充、相互印证。结论: 白脉软膏主要通过调节神经系统功能、维持机体炎症-免疫系统平衡及干预机体能量代谢的整合效应来发挥其对白脉病的治疗作用, 相关研究可为白脉软膏作用机制的深入阐释提供参考, 并有助于指导其临床合理用药。

[关键词] 藏族医药; 白脉软膏; 生物信息学; 白脉病; 功效组; 配伍特点; 网络药理学

[中图分类号] R22; R28; R96; R857.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)24-0186-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212046

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211018.1831.010.html>

[网络出版日期] 2021-10-19 11:37

Investigation on Compatibility Characteristics and Mechanism of Baimai Ointment in Intervening "White Vein" by Integrating Bioinformatics Analysis and Prescription Rule Discovery

LIU Yu-dong, MAO Xia*, ZHANG Su-ya, ZHOU Fang-ting, YANG Fei, WANG Xiao-xiao,
TAO Xue-ying, WANG Chao, LIN Na*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanism and compatibility characteristics of Baimai ointment (BMO) in the treatment of white vein disease from the network perspective based on system theory, so as to provide biological basis for its clinical application. **Method:** The chemical components and the corresponding

[收稿日期] 20210921(005)

[基金项目] 中国中医科学院科技创新工程项目(C12021A03808); 中国中医科学院中药研究所技术研发项目(20210701); 国家“重大新药创制”科技重大专项(2019ZX09731002)

[第一作者] 刘毓东, 在读硕士, 从事中药药理学研究, Tel: 010-64032658, E-mail: kabutoyun1@163.com

[通信作者] *毛霞, 博士, 助理研究员, 从事中药药理学研究, Tel: 010-64032658, E-mail: 506757900@qq.com;

*林娜, 博士, 研究员, 从事中药药理学研究, Tel: 010-64032658, E-mail: nlin@icmm.ac.cn

candidate target spectra of BMO were obtained from The Encyclopedia of Traditional Chinese Medicine (ETCM) and Integrative Pharmacology-based Research Platform of Traditional Chinese Medicine (TCMIP). According to the clinicopathological characteristics of white vein disease, focusing on four diseases/symptoms including neuropathic pain, inflammatory pain, chronic pain and lumbar disc herniation root neuralgia, the gene sets related to white vein disease were collected in Human Phenotype Ontology (HPO), DisGeNET and other databases, then the interaction network of the targets of active components in BMO-gene sets related to white vein disease was constructed. On this basis, the hub network nodes were selected and enriched for exploring the mechanism of four functional groups of BMO in the treatment of white vein disease such as Huoxue Tongluo group (Curcumae Longae Rhizoma, Moschus, Tronae), Xingqi Zhitong group (Myristicae Semen, Nardostachyos Radix et Rhizoma, Acori Calami Rhizoma), Wenjing Sanhan Tongluo group (Zingiberis Rhizoma, Zanthoxyli Pericarpium, Caraway) and Jianpi Wenshen Qianggu group (Actinolite, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma). **Result:** The enriched pathways of the four functional groups in BMO were mainly distributed in three modules of nervous system function, inflammation-immune system regulation and body energy metabolism, and each module was connected by common target genes especially had its own focus. Among them, the regulation of nervous system function in Huoxue Tongluo group and Xingqi Zhitong group could be summarized as Huoxue Buqi and Xingshen Kaiqiao. Xingqi Zhitong group and Jianpi Wenshen Qianggu group were mainly used to promote the operation of Qi, promote blood metaplasia, enhance immunity and maintain the regulation of inflammation-immune system. Jianpi Wenshen Qianggu group and Wenjing Sanhan Tongluo group mainly regulated body energy metabolism by invigorating the spleen and supplementing Qi as well as warm-heat medicine. The whole formula focused on the multi-dimensional and multi-level mechanism of BMO in the intervention of white vein disease. Each functional group emphasized its respective characteristics in nervous system function, inflammation-immune regulation, and body energy metabolism. Two types of networks analysis models complemented and verified each other. **Conclusion:** BMO plays a role in the treatment of white vein disease mainly by regulating the function of nervous system, maintaining the balance of inflammation-immune system and interfering with energy metabolism. The relevant research results can provide reference for the in-depth exploration of the mechanism of BMO, and help to guide the clinical rational use of this preparation.

[Keywords] Tibetan medicine; Baimai ointment; bioinformatics; white vein disease; efficacy group; compatibility characteristics; network pharmacology

“白脉”属于藏族医学(以下简称“藏医”)理论的范畴,藏医理论认为机体的生命活动由隆、赤巴、培根3种能量物质构成。“白脉”则是以隆为物质基础,从脑中发出,如树根状向下分布于人体。从生理学角度来看,目前大多观点认为“白脉”泛指神经系统,由大脑、小脑、延脑、脊髓及各种外周神经组成^[1]。藏医中白脉病是对一类疾病的概括,机体因过度运动、跌打损伤、创伤、中毒、疫病传染、热邪入侵及“白脉”,就会引发白脉病。白脉病主要表现为精神抑郁、肢体功能减退或丧失、四肢颤动、手足麻木、外伤等,且绝大多数患者都会表现出“痛”这一病理特征,结合临床表现和研究发现,白脉病“痛”的症状与神经病理性疼痛、炎性疼痛、慢性疼痛和腰椎间盘突出根性神经痛的症状相似。

在藏医理论中,白脉病的疗法有广义和狭义之分,2种治法均会采用外治疗法,该方法是以陈酥油与特制的药物混合加热,采取涂擦、按摩和推拿的方法恢复“白脉”的功能。藏族药(以下简称“藏药”)白脉软膏是外治疗法的代表药物之一^[2],由姜黄、肉豆蔻、甘松、阳起石、甘草、人工麝香、干姜、藏茴香、藏菖蒲、花椒、碱花共11味药组成,具有舒筋活络功效,临床上主要用于骨骼肌肉系统病变累及神经的疾病,如脑卒中、脑瘫、帕金森病、肩手综合征、颈椎病、腰椎间盘突出、膝骨性关节炎、周围神经炎、坐骨神经痛等,以及外伤引起的肢体运动和感觉功能障碍^[3-5]。由此可见,白脉软膏在神经系统、骨关节等疾病的治疗中具有重要影响。但目前尚缺乏对白脉软膏作用机制的研究,这限制了该制

剂的进一步应用与发展。基于此,本研究拟将神经系统、骨关节等疾病的临床特征和白脉软膏组方中药的增效组有机结合,通过开展疾病基因-药物靶标-生物通路-功能模块多层次关联网络分析,多维度考察该制剂的作用机制,以明确组方中药在全方发挥作用过程中的贡献和增效特点,为白脉软膏在临床合理应用提供依据。

1 方法

1.1 白脉软膏组方理论与功效组的划分 方中姜黄辛散温通苦泄,入气入血,可行气活血、通经活络止痛,为君药;肉豆蔻、甘松二者行气止痛,为臣药,与君药姜黄配伍,加强通痹止痛之效;加人工麝香、碱花活血祛瘀消滞,二者配合可行血中之瘀滞、开经络之壅遏;干姜、花椒、藏茴香辛温散寒,温经通脉;藏菖蒲祛除经络之湿邪;阳起石温肾阳、强筋骨,七药俱为佐药。方中甘草缓急止痛,调和诸药,为使药;阳起石、碱花味咸可直达肾经,兼为使药。该方重用辛温发散药,以祛除滞留筋骨经络之顽邪,使寒湿之邪从上而解;碱花味咸趋下,使瘀邪从下而解,上下分利邪气;并加入阳起石温肾强骨以固本,达到祛邪兼以扶正之效。诸药合用,遵循“通则不痛,痛则不通”的理论,达到温经散寒、舒经活络的目的。围绕该药核心功效及其临床作用特点,将白脉软膏拆分为活血通络组(姜黄、麝香、碱花),行气止痛组(肉豆蔻、甘松、藏菖蒲),温经散寒通络组(干姜、花椒、藏茴香)和健脾温肾强骨组(阳起石、甘草)4个功效组,该分组方法结合遣药组方的原则,与其功效主治相互呼应^[6-7]。

1.2 白脉软膏潜在活性成分收集与候选靶标谱的发掘 首先,利用中医药百科全书数据库(ETCM)和中医药整合药理学研究平台(TCMIP)对白脉软膏所含药味的名称进行检索,筛选单味药的化学成分(ETCM:生物利用度>30%,类药性>0.18和成药性等级>0.49;TCMIP:成药性等级为高、中);同时,结合文献报道筛选候选药物的活性成分,如某些化学成分虽不满足数据库参数设定条件,但有文献报道明确的活性成分也纳入候选。其次,通过TCMIP v2.0(可靠性参数>0.8)和SwissTargetPrediction(probability中位数卡值以上)数据库检索候选靶标。然后将筛选的药物靶标导入UniProt蛋白质序列数据库中,校正基因名称为官方名称(official symbol),获得药物活性成分相关候选靶标谱。

1.3 白脉病相关基因集的建立 因现代医药理论中尚无白脉病这一名称,结合该病的临床病理特点

及白脉软膏的临床适应证,本研究借鉴神经病理性疼痛、炎性疼痛、慢性疼痛和腰椎间盘突出根性神经痛4种疾病的症状作为研究白脉病临床病理学特征的基础,并分别从人类表型本体(HPO),DisGeNET,在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM),Therapeutic Target Database, GeneCards,药物基因组学知识库(PharmGKB)和GAD Database数据库以neuropathic pain, inflammatory pain, chronic pain和lumbar disc herniation root neuralgia为检索词条对疾病相关基因进行检索和收集,去冗余后得到白脉病相关的疾病基因集。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建与白脉病核心靶点的筛选 将4个功效组的药物候选靶标谱与白脉病相关基因集导入Venny 2.1.0进行分析,筛选白脉软膏有效活性成分候选靶标谱与疾病基因集的共有基因,得到白脉软膏治疗白脉病的作用靶点,并导入STRING 10.0软件构建PPI网络;运用CytoHubba v0.1对上述PPI网络中节点的拓扑特征值(连接度、介度、紧密度)分别进行计算,筛选三者均大于相应中位数的节点,作为该PPI网络的核心靶标。

1.5 白脉病核心靶点的富集分析 通过DAVID 6.8对白脉软膏干预白脉病潜在网络靶标进行基因本体(GO)生物学过程富集分析,研究其核心靶点的生物过程;并进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析($P<0.05$),筛选白脉软膏4个功效组与其干预白脉病相关的信号通路。

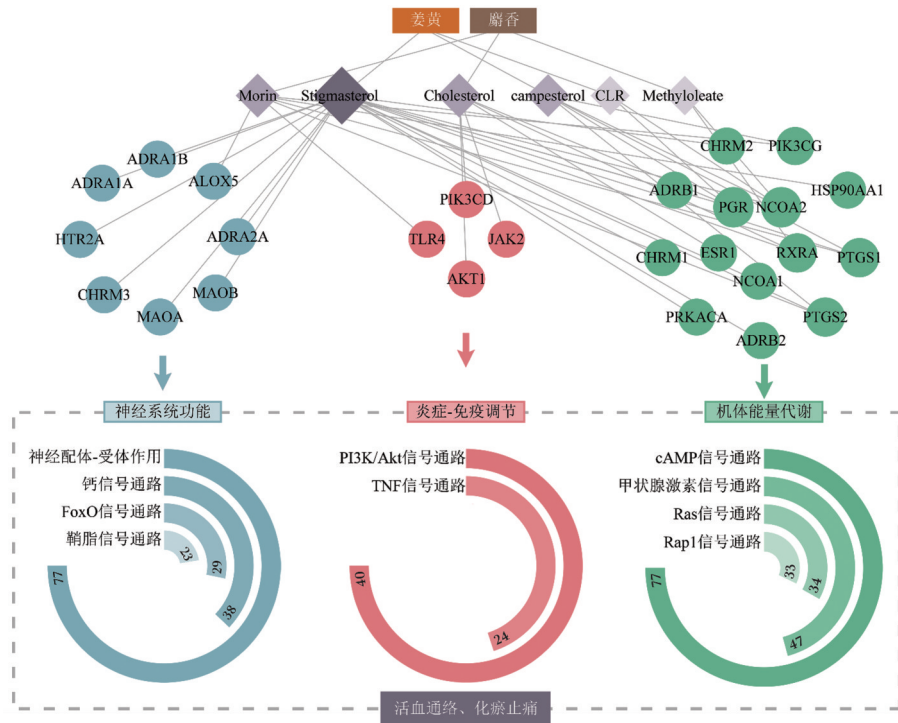
2 结果

2.1 白脉软膏药物候选靶标谱的建立 利用ETCM和TCMIP v2.0收集白脉软膏中11味中药的潜在活性成分,共筛选到活血通络组成分34个、行气止痛组成分162个、温经散寒通络组成分102个和健脾温肾强骨组成分183个。将上述4个功效组的活性成分用TCMIP v2.0和SwissTargetPrediction数据库筛选候选靶标基因,依据描述的筛选原则将2个数据库筛选到的基因去冗余整合,得活血通络组基因488个、行气止痛组基因920个、温经散寒通络组基因921个和健脾温肾强骨组基因840个;共得到1415个候选靶标。

2.2 活血通络组的药理作用特点分析 构建活血通络组候选靶标-白脉病疾病基因集的PPI网络,其中有6个为白脉软膏中姜黄、麝香的候选靶标,对应6个候选活性成分,257个白脉病相关基因。其核心靶标基因参与通路主要有神经活性配体-受体作用、

环磷酸腺苷(cAMP)信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路、钙信号通路、甲状

腺激素信号通路、叉头框转录因子O(FoxO)信号通路及Ras信号通路等,见图1。



图中紫色菱形代表成分;蓝、红、绿色圆形代表不同模块的靶标;图中节点越大/颜色越深代表该节点在网络之中越重要(依据网络中的度值来界定)(图2~5同)

图1 白脉软膏活血通络组候选靶标-白脉病疾病基因集PPI网络

Fig. 1 PPI network of candidate target of Huoxue Tongluo group from Baimai ointment-gene set of white vein disease

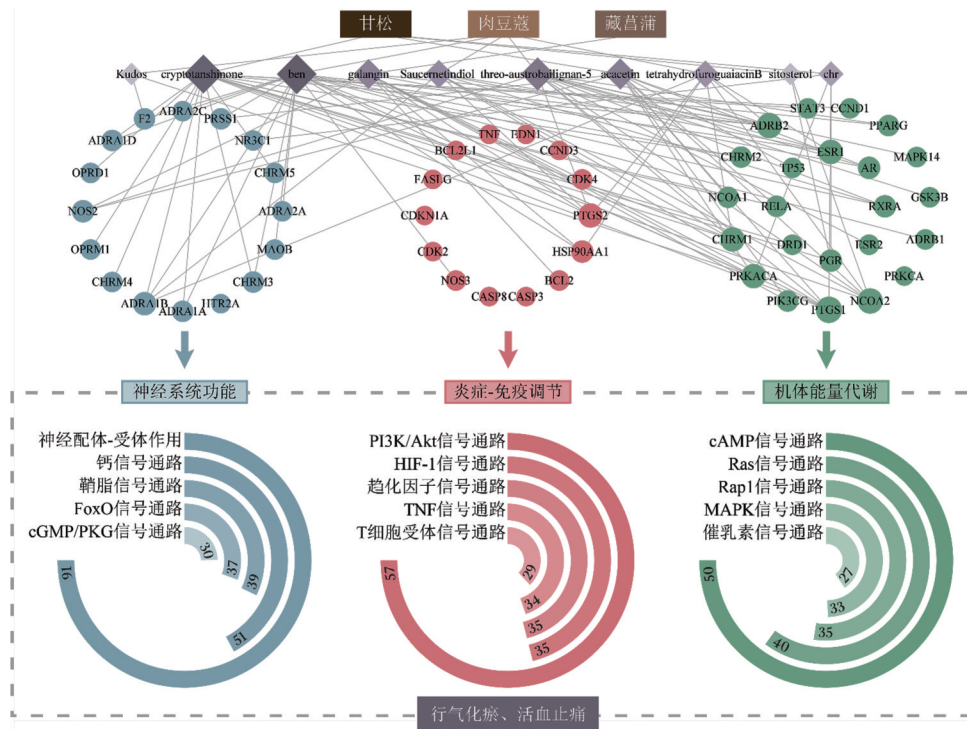
2.3 行气止痛组的药理作用特点分析 构建行气止痛组候选靶标-白脉病疾病基因集PPI网络,其中54个为白脉软膏中甘松、肉豆蔻、藏菖蒲的候选靶标,对应10个候选活性成分,343个白脉病相关基因。其核心靶标基因参与的通路主要有神经活性配体-受体作用,鞘脂信号通路,cAMP信号通路,钙信号通路,甲状腺激素信号通路,FoxO信号通路,PI3K/Akt信号通路,缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路及Ras信号通路等,见图2。

2.4 温经散寒通络组的药理作用特点分析 构建温经散寒通络组候选靶标-白脉病疾病基因集PPI网络,其中23个为白脉软膏中花椒、藏茴香、干姜的候选靶标,对应6个候选活性成分,451个白脉病相关基因。其核心靶标基因参与的通路主要有肿瘤坏死因子(TNF)信号通路,PI3K/Akt信号通路,趋化因子信号通路,神经活性配体-受体作用,鞘脂信号通路,cAMP信号通路,钙信号通路和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路等,见图3。

2.5 健脾温肾强骨组的药理作用特点分析 构建健脾温肾强骨组候选靶标-白脉病疾病基因集PPI

网络,其中33个为白脉软膏中甘草的候选靶标,对应25个候选活性成分,407个白脉病相关基因。其核心靶标基因参与的通路主要有神经活性配体-受体作用,cAMP信号通路,钙信号通路,甲状腺激素信号通路见图4。

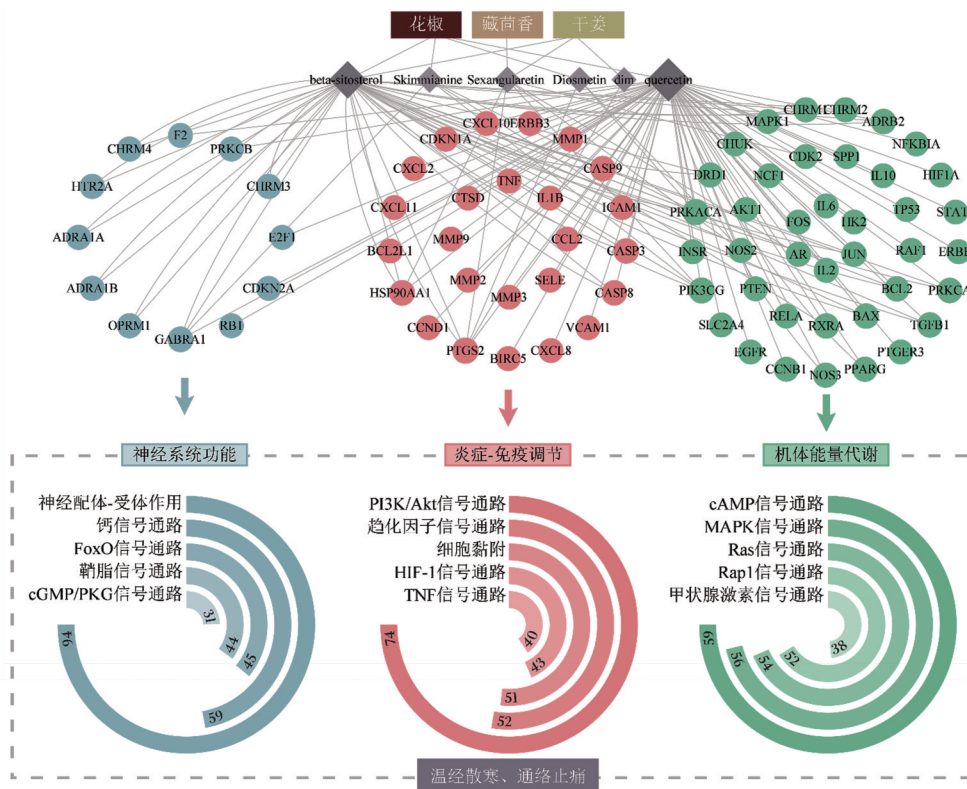
2.6 全方与各功效组网络分析的比较 构建白脉软膏全方候选靶标-白脉病疾病基因集PPI网络,其中143个为白脉软膏药物的候选靶标,对应105个候选活性成分,534个白脉病相关基因。其核心靶标基因参与神经系统功能相关的通路包括FoxO信号通路,神经营养因子信号通路,鞘脂信号通路,胆碱能突触,肌动蛋白细胞骨架的调节,神经活性配体-受体作用,多巴胺能突触,钙信号通路,环磷酸鸟苷/蛋白激酶G(cGMP/PKG)信号通路,轴突引导等;参与炎症-免疫调节相关的通路包括HIF-1信号通路,PI3K/Akt信号通路,TNF信号通路,趋化因子信号通路,核转录因子-κB(NF-κB)信号通路,类风湿关节炎,血管内皮生长因子信号通路,T细胞受体信号通路等;参与与机体能量代谢相关的通路包括cAMP信号通路,(Ras相关蛋白1)Rap1信号通路,



ben. 5- $\{$ (2*S*, 3*S*)-7-methoxy-3-methyl-5- $[(E)$ -prop-1-enyl]-2, 3-dihydrobenzofuran-2-yl $\}$ -1, 3-benzodioxole; chr. (2*R*)-5, 7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one

图 2 白脉软膏行气止痛组候选靶标-白脉病疾病基因集 PPI 网络

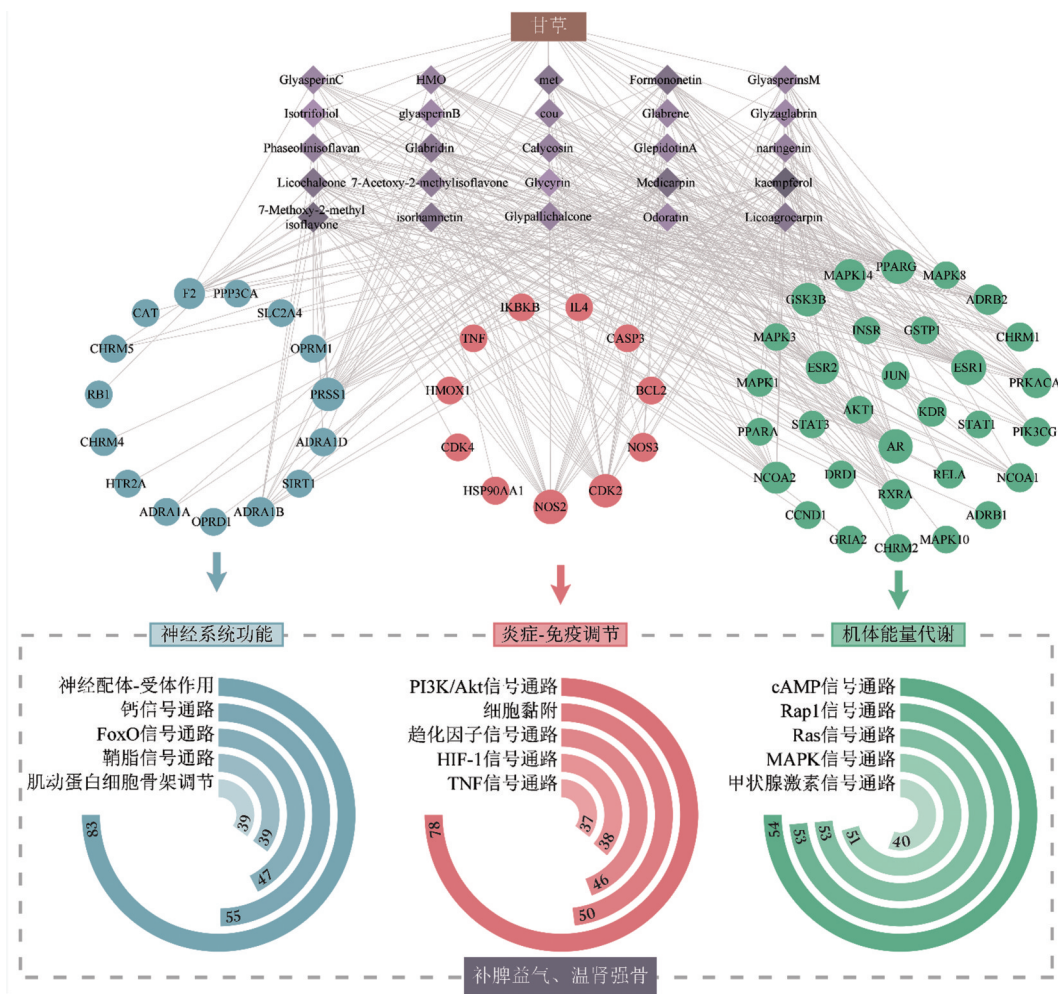
Fig. 2 PPI network of candidate target of Xingqi Zhitong group from Baimai ointment-gene set of white vein disease



dim. $\{$ (1*S*)-3- $[(E)$ -but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl $\}$ (1*R*, 3*R*)-3- $[(E)$ -3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2, 2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate

图 3 白脉软膏温经散寒通络组候选靶标-白脉病疾病基因集 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of candidate target of Wenjing Sanhan Tongluo group from Baimai ointment-gene set of white vein disease



met. 2-(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyran[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol; cou. 3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin

图4 白脉软膏健脾温肾强骨组候选靶标-白脉病疾病基因集 PPI 网络

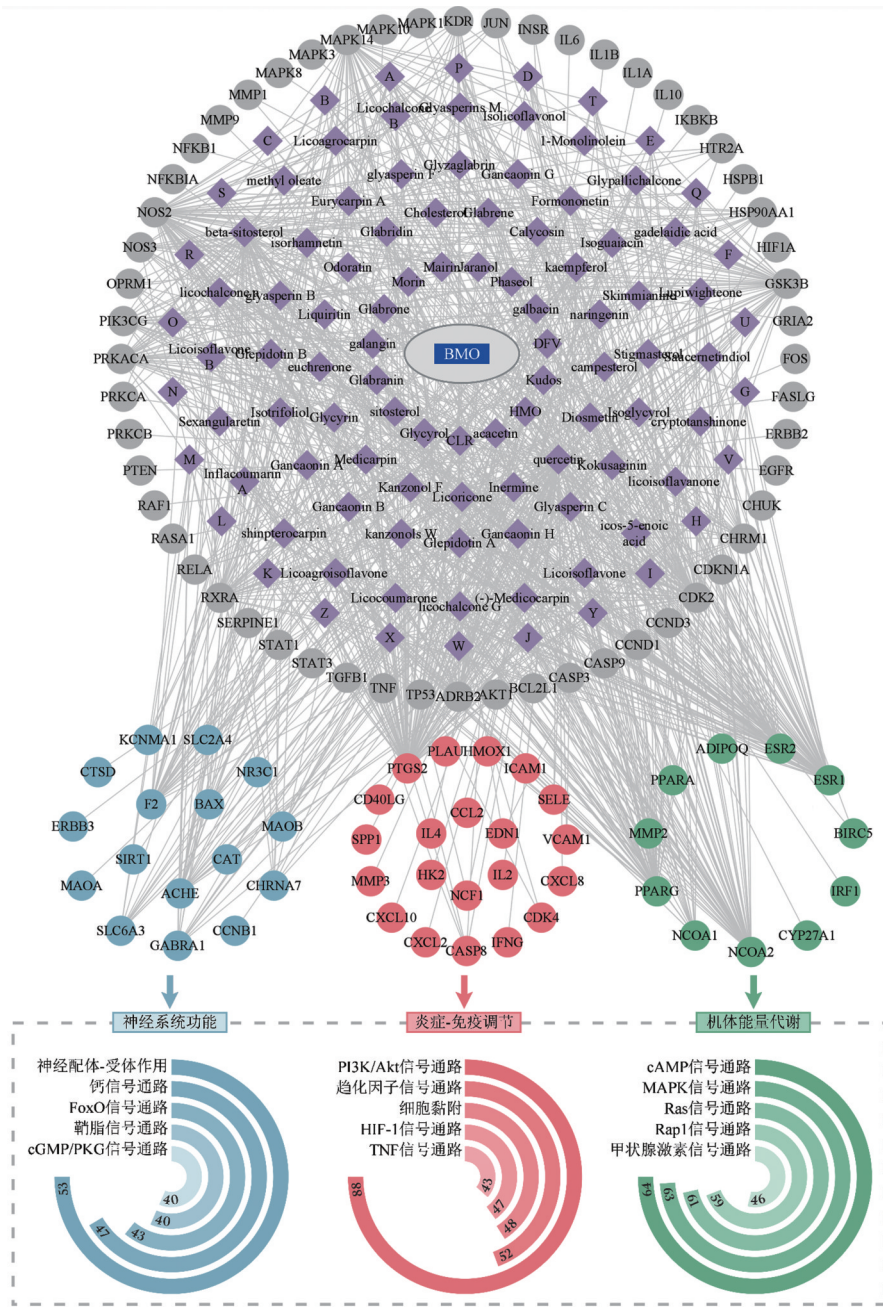
Fig. 4 PPI network of candidate target of Jianpi Wenshen Qianggu group from Baimai ointment-gene set of white vein disease

Ras 信号通路, MAPK 信号通路, 过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路, 甲状腺激素信号通路, 雌激素信号通路, 磷脂酰肌醇信号及蛋白激酶 Hippo 信号通路等。见图 5。综合分析, 白脉软膏干预神经病理性疼痛、炎性疼痛、慢性疼痛和腰椎间盘突出根性神经痛的核心靶标群主要富集于神经系统功能、炎症-免疫系统调节和机体能量代谢等相关通路。4 个功效组的核心靶标群均可富集于上述 3 个模块, 其中活血通络组的核心靶标群主要参与神经系统功能和机体能量代谢模块, 主要富集于神经活性配体-受体作用, 钙信号通路, FoxO 信号通路, cAMP 信号通路, 甲状腺激素信号通路及 Ras 信号通路等; 行气止痛组、温经散寒通络组及健脾温肾强骨组的核心靶标群主要参与神经系统功能与炎症-免疫系统调节模块, 包括神经活性配体-受体作用, 钙信号通路, FoxO 信号通路, 鞘脂信号通路,

PI3K/Akt 信号通路, TNF 信号通路, HIF-1 信号通路及趋化因子信号通路等, 白脉软膏各功效组及全方网络分析的结果见表 1。全方网络分析体现了白脉软膏多维度、多层次干预白脉病的作用机制, 相比之下, 拆方后的各功效组相关分子网络分析则强调了不同功效组特异的作用特点, 尤其凸显各功效组在神经系统功能、炎症-免疫调节、机体能量代谢等方面的异同点, 同时与划分功效组的出发点(探讨功效生物内涵和组方配伍特点)相扣, 说明 2 种网络分析模式可相互补充、相互印证。

3 讨论

“白脉”一词最早源于《四部医典》, 是藏医特有的医学理论体系, 在此基础上衍生出的白脉病, 则有其独特的白脉疗法。白脉病本身并不特指一种疾病, 而是所有与白脉相关疾病的总称, 主要涵盖杰尔斯病(近似于现代医学的癫痫), 索隆病(情绪



灰色圆形代表3个功能模块共用的靶标; A. 2-(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol; B. (2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one; C. (2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chroman-4-one; D. 3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin; E. 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone; F. [(1S)-3-[(E)-but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl]-(1R,3R)-3-[(E)-3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate; G. (E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl)prop-2-en-1-one; H. (2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one; I. 8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol; J. 5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone; K. 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone; L. (2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano[2,3-f]chromen-4-one; M. 5-[(2S,3S)-7-methoxy-3-methyl-5-[(E)-prop-1-enyl]-2,3-dihydrobenzofuran-2-yl]-1,3-benzodioxole; N. (E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one; O. (2R)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one; P. 3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin; Q. 7-acetoxy-2-methylisoflavone; R. 1-methoxyphaseollidin; S. tetrahydrofuroguaiacin B; T. dehydroglyasperin C; U. semilicoisoflavone B; V. glycyrrhiza flavonol A; W. threo-austrobailignan-5; X. 7-methoxy-2-methyl isoflavone; Y. phaseolinisoflavan; Z. licopyranocoumarin

图5 白脉软膏全方-白脉疾病基因集PPI网络

Fig. 5 PPI network of candidate target of Baimai ointment-gene set of white vein disease

表1 白脉软膏各功效组及全方网络分析结果的比较

Table 1 Comparison of results of network analysis between whole formula and each functional group of Baimai ointment

组别	候选靶标/个	网络核心节点数/个			主要富集通路
		白脉病	药物	共计	
全方	1 415 ¹⁾	534	143	677	神经系统功能:神经活性配体-受体作用,钙信号通路,FoxO信号通路,鞘脂信号通路,cGMP-PKG信号通路;炎症-免疫系统调节:PI3K/Akt信号通路,趋化因子信号通路,细胞黏附,HIF-1信号通路,TNF信号通路;机体能量代谢:cAMP信号通路,MAPK信号通路,Ras信号通路,Rap1信号通路,甲状腺激素信号通路
活血通络	488	257	6	263	神经系统功能:神经活性配体-受体作用,钙信号通路,FoxO信号通路;炎症-免疫系统调节:PI3K/Akt信号通路,TNF信号通路;机体能量代谢:cAMP信号通路,甲状腺激素信号通路,Ras信号通路
行气止痛	920	343	54	397	神经系统功能:神经活性配体-受体作用,钙信号通路,鞘脂信号通路;炎症-免疫系统调节:PI3K/Akt信号通路,HIF-1信号通路,趋化因子信号通路;机体能量代谢:cAMP信号通路,Ras信号通路,Rap1信号通路
温经散寒通络	921	451	23	474	神经系统功能:神经活性配体-受体作用,钙信号通路,FoxO信号通路;炎症-免疫系统调节:PI3K/Akt信号通路,趋化因子信号通路,细胞黏附;机体能量代谢:cAMP信号通路,MAPK信号通路,Ras信号通路
健脾温肾强骨	840	407	33	440	神经系统功能:神经活性配体-受体作用,钙信号通路,FoxO信号通路;炎症-免疫系统调节:PI3K/Akt信号通路,细胞黏附,趋化因子信号通路;机体能量代谢:cAMP信号通路,Rap1信号通路,Ras信号通路

注:¹⁾去冗余后数值。

抑郁),塔尔坚病(脊柱畸形),楚布病(近似于现代医学的风湿病),中风,外伤引起的经筋损伤及神经性疼痛等。同时,白脉疗法也有广义与狭义之分,广义的疗法包括内服藏药、外治疗法、饮食调节及情志疗法;狭义的疗法仅有外治疗法^[5,8]。随着精准医学的不断发展,这种临床病理特征广泛,治法易混淆的概念似乎与精准医学的理念颇有偏失。再者因白脉病一词在现代医学中并没有明确系统化,进而遏制了治疗该疾病药物的进一步发展。基于此,本课题组结合该病的临床特点,以及治疗该疾病的代表药(白脉软膏)的临床适应证及应用,参照神经病理性疼痛、炎性疼痛、慢性疼痛和腰椎间盘突出根性神经痛的病理学特征,采用网络药理学手段,结合中医、藏医的治疗理念,系统阐释白脉软膏治疗白脉病的生物学内涵。

通过对白脉软膏4个功效组及全方的网络分析后发现,活血通络组、行气止痛组、温经散寒通络组和健脾温肾强骨组的核心靶标群功能富集主要涉及3个功能模块,包括神经系统功能、炎症-免疫调节和机体能量代谢,各个模块之间通过共有靶标基因联结,各有侧重,并与全方相呼应,显示出中药不同成分间的多靶点、多途径的协同作用特点。在神经系统功能的调节方面,4个功效组的核心靶标群均可富集到神经活性配体-受体作用、钙信号通路、鞘脂信号通路和FoxO信号通路,与全方作用相吻合。传统中医药理论对神经功能疾病的治疗理念

主要包括两方面:①通过理气、活血、化痰来推动气血运动促进神经功能的恢复,起到濡养、保护神经的作用;②通过醒神开窍,使人的精神达到正常状态^[9]。活血通络组和行气止痛组含有活血药和理气药,再配以温经散寒通络组药味加强活血、理气效果;健脾温肾强骨组则有健脾益气、温阳的药材发挥滋补、濡养的作用。现代研究发现,中药对神经功能的调节和保护研究多集中在抗神经细胞凋亡、抗炎、抗氧化应激等方面,白脉软膏所含的多种活性成分均具有上述功能,姜黄中的姜黄素具有兴奋神经细胞和神经元干细胞的功能^[10],同时也具有良好的抗炎、抗应激和神经营养作用,常用于治疗抑郁症和焦虑症^[11]。肉豆蔻中的肉豆蔻木酚素是一种过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 激动剂,可以对多巴胺能神经元提供神经保护作用^[12];该成分还可能通过PI3K/Akt信号通路,调控哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)和FoxO3a等靶蛋白的活化,抑制神经炎症反应,同时抑制内源性神经毒素对神经元的损伤作用^[13]。甘松提取物具有抗抑郁、镇静、抗惊厥、抗癫痫、抗炎及抗氧化等药理作用^[14]。甘草中的异甘草苷可通过提高脊髓单胺5-羟色胺(5-HT)来治疗慢性神经疼痛^[15]。

在炎症-免疫系统调节方面,除了因外伤造成的炎症反应,神经病变和损伤过程本身就与炎症密不可分^[16],巨噬细胞、细胞因子、趋化因子和T淋巴细胞等都在此过程中扮演着重要角色^[17]。4个功效组

的核心靶标群均可不同程度地富集到与炎症密切相关的通路,如PI3K/Akt信号通路和TNF信号通路,与全方相吻合。基于中药的组方规律来阐释,行气止痛组中药含有理气药,用于推动机体气体运行,使各个系统正常发挥作用,促进血液化生,增强机体免疫;温经散寒通络组则有大量热性药,可与理气药协同增效;健脾温肾强骨组含有补益药,通过补脾益气促进血液化生,配合理气药寓有活血补血之意;同时,甘草本身具有清热解毒的功效,用以抗炎解热。此外,白脉软膏所含的多种活性成分均具抗炎-免疫作用。干姜的活性成分可参与细胞凋亡、细胞骨架调节和黏附、免疫-炎症及神经系统的生物过程^[18-20];有研究发现其还可通过增加FoxP3基因的表达并降低转录因子视黄酸受体相关核受体 γ (ROR γ t)和T盒子转录因子基因的表达来治疗类风湿性关节炎^[21]。韦琳等^[22]发现花椒提取物可降低PI3K催化亚基 γ (PI3KCG),磷酸化NF- κ B和磷酸化p38 MAPK的表达水平发挥抗炎作用;还可通过降低次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶来治疗骨关节炎^[23]。甘草中的成分甘草苷可通过减轻炎浸润、抑制血管生成和抑制MAPK信号通路来减轻类风湿性关节炎^[24]。

在调节机体能量代谢方面,4个功效组的核心靶标群均可富集到与机体能量代谢密切相关的通路,包括cAMP信号通路,甲状腺激素信号通路,Ras信号通路和Rap1信号通路,与全方相一致。从中医药组方理论来阐释,健脾温肾强骨组药材主要为补益药,阳起石补肾壮阳,甘草补脾益气;温经散寒通络组药材含大量热性药,可助补益药促进血液化生。据报道,温热药性与中枢神经系统功能密切相关,温热药可兴奋中枢神经系统,影响中枢神经系统的反应性,长期给予动物温热药可增强动物甲状腺、肾上腺皮质、卵巢等内分泌功能,同时对中枢神经的递质产生影响^[25]。白脉软膏所含的多种活性成分均有调节机体能量代谢的作用,甘草中的甘草酸可通过上调过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 的表达水平,从而改善血脂异常^[26];干姜水煎液可通过提高H9c2心肌细胞线粒体呼吸功能和能量代谢,进而改善其线粒体功能损伤^[27]。

本研究结合白脉病的临床病理学特征及白脉软膏的作用特点,通过构建和分析白脉软膏活性成分候选靶标-白脉病疾病基因集PPI网络,揭示了白脉软膏组方中活血通络、行气止痛、温经散寒通络和健脾温肾强骨4个主要功效组的生物学内涵。结

果表明各功效组的核心靶标群均参与了对与白脉病发生、发展密切相关的神经系统功能、炎症-免疫调节和机体能量代谢等相关通路的干预。白脉软膏一方面促进机体神经功能的恢复,加强神经的保护作用;另一方面增强免疫系统功能,发挥抗炎作用,同时促进机体的能量代谢,恢复机体的动态平衡。这与该制剂的组方规律及临床适应证相契合,凸显了其在治疗白脉病方面的优势与特点,为白脉软膏的临床合理应用提供了生物学依据及研究思路。因碱花、麝香及阳起石目前并无较为深入的研究,并且动物药及矿物药有着不同于植物药的研究体系,数据库中对这3味药材的信息尚不完整,因此,本研究未将碱花和阳起石纳入网络分析。在后续研究中,本课题组将利用全方给药及拆方给药干预的生物样本,开展转录组学、蛋白质组学等高通量检测,以期获得该制剂的效应靶标谱,为更加全面地阐释白脉软膏治疗白脉病的作用机制提供高质量数据资源。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 张壮,周生军,陈伦举,等. 藏医白脉理论浅谈及白脉软膏近10年的研究进展[J]. 中国民族医药杂志, 2018,24(11):63-66.
- [2] 郑丽娟,任小巧,王明强,等. 基于藏医白脉理论的中风病诊疗规律探析[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2017,19(2):370-374.
- [3] 王海苹,马振元,李丽. 藏医白脉病发病与治疗研究现状[J]. 中国民族民间医药,2012,21(12):9-10.
- [4] 方晓艳,王琳琳,张帆,等. 脑缺血预处理对脑缺血再灌注大鼠的保护作用及对神经营养因子表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(18):112-117.
- [5] 任小巧,仁青加,郑丽娟,等. 藏医特色技术-白脉病疗法临床应用分析及推广应用思考[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2018,20(3):453-459.
- [6] 陈文佳,毛霞,郭晓东,等. 从网络视角探讨复方鳖甲软肝片的抗肝癌潜能及其组方功效配伍特点[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(24):11-22.
- [7] 文成当智,仁真旺甲,尕藏扎西,等. 基于偏序结构和药性理论的“方-药-量-性”共性关联分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(9):184-192.
- [8] 阿麦. 浅谈藏医治疗和预防白脉病(中风)的方法[J]. 求医问药,2012,10(8):296.
- [9] 孟庆琦,米妍,侯悦. 基于神经血管单元各组成部分保护作用的中药抗缺血性脑卒中的研究进展[J]. 中草药,2021,52(17):5445-5454.

- [10] CALABRESE E J, DHAWAN G, KAPOOR R, et al. Curcumin and hormesis with particular emphasis on neural cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 129: 399-404.
- [11] CHOI G Y, KIM H B, HWANG E S, et al. Curcumin alters neural plasticity and viability of intact hippocampal circuits and attenuates behavioral despair and COX-2 expression in chronically stressed rats [J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 6280925.
- [12] KIYOFUJI K, KURAUCHI Y, HISATSUNE A, et al. A natural compound macelignan protects midbrain dopaminergic neurons from inflammatory degeneration via microglial arginase-1 expression [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 760: 129-135.
- [13] 宗堪堪. 肉豆蔻木酚素对小胶质细胞介导的神经炎症反应的调控作用[D]. 延吉: 延边大学, 2020.
- [14] 于素玲, 叶霄, 贾国夫, 等. 青藏高原药用植物甘松研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(19): 243-250.
- [15] YU C, ZHANG Y, GAO K X, et al. Serotonergically dependent antihyperalgesic and antiallodynic effects of isoliquiritin in a mouse model of neuropathic pain [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 881: 173184.
- [16] 赵洪庆, 唐林, 吴碧茹, 等. 百合地黄汤抑制 NLRP3 炎症小体激活改善焦虑性抑郁症模型大鼠海马神经元损伤[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(20): 7-14.
- [17] SOMMER C, LEINDERS M, UCEYLER N. Inflammation in the pathophysiology of neuropathic pain [J]. *Pain*, 2018, 159(3): 595-602.
- [18] KIYAMA R. Nutritional implications of ginger: chemistry, biological activities and signaling pathways [J]. *J Nutr Biochem*, 2020, 86: 108486.
- [19] 何平平, 钟凌云. 干姜、生姜及其炮制辅料姜汁的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(6): 219-223.
- [20] 闫曙光, 惠毅, 李倩, 等. 黄连-干姜提取物对溃疡性结肠炎小鼠结肠上皮 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(4): 70-75.
- [21] ARYAEIAN N, SHAHRAM F, MAHMOUDI M, et al. The effect of ginger supplementation on some immunity and inflammation intermediate genes expression in patients with active rheumatoid arthritis [J]. *Gene*, 2019, 698: 179-185.
- [22] 韦琳, 宗伟, 曾庆鸿, 等. 花椒抗炎镇痛网络药理学分析及实验验证研究 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(12): 3034-3042.
- [23] HWANG K A, KWON J E, NOH Y, et al. Effects of *Zanthoxylum piperitum* ethanol extract on osteoarthritis inflammation and pain [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 105: 481-490.
- [24] ZHAI K F, DUAN H, CUI C Y, et al. Liquiritin from *Glycyrrhiza uralensis* attenuating rheumatoid arthritis via reducing inflammation, suppressing angiogenesis, and inhibiting MAPK signaling pathway [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(10): 2856-2864.
- [25] 韩涛, 章健. 寒热药性刍议 [J]. *光明中医*, 2014, 29(6): 1127-1128.
- [26] YAW H P, TON S H, CHIN H F, et al. Modulation of lipid metabolism in glycyrrhizic acid-treated rats fed on a high-calorie diet and exposed to short or long-term stress [J]. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 2015, 7(1): 61-75.
- [27] 文建霞, 赵艳玲. 干姜水煎液对心肌细胞线粒体功能损伤的改善作用研究 [J]. *中国药房*, 2021, 32(9): 1070-1076.

[责任编辑 刘德文]