

基于生物信息学分析益脉颗粒抗动脉粥样硬化的机制

关乐¹, 闵冬雨¹, 王俊岩¹, 酒俊龙¹, 杨关林^{1*}, 王庆峰^{2*}

(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110032; 2. 沈阳师范大学粮食学院, 沈阳 110031)

[摘要] **目的:**以生物信息学手段预测临床方剂益脉颗粒的作用靶点,根据靶点基因的调节方式,确定其作用的信号通路,最终确定该方的分子作用机制。**方法:**采用生物信息学手段对该组方内的全部药物的潜在调控基因进行预测。根据药物的君、臣、佐、使构成,对益脉颗粒内全部作用于动脉粥样硬化(AS)的靶点基因进行韦恩图绘制,将上述重叠的基因定义为靶向基因。考察给药前后AS模型小鼠的血象变化及对应的靶点基因调控方式,以确定该方剂改善AS的机制。实验组共计60只ApoE^{-/-}小鼠,随机分为5组,连续喂养12周;模型组12只,高脂高胆固醇饮食+生理盐水灌胃;益脉颗粒高剂量组12只,高脂高胆固醇饮食+中药高剂量灌胃;益脉颗粒中剂量组12只,高脂高胆固醇饮食+中药中剂量灌胃;益脉颗粒低剂量组12只,高脂高胆固醇饮食+中药低剂量灌胃;阳性组12只,高脂高胆固醇饮食+阿托伐他汀钙片。**结果:**益脉颗粒可降低小鼠的甘油三酯(TG),总胆固醇(TC),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平,且与剂量呈正相关;益脉颗粒高剂量组降低TG,TC,LDL-C及HDL-C的水平均弱于阿托伐他汀钙片组。预测发现益脉颗粒的作用靶点包括羧酸酯酶1(CES1),3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMGCR),过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)D,PPARG,肝X受体α(LXR-α)及三磷酸腺苷结合盒转运体A1(ABCA1)。**结论:**益脉颗粒可通过对CES1,HMGCR,PPAR,PPARG,LXR-α及ABCA1等靶点基因表达的上调,激活相应的信号通路,从而实现对其AS的治疗作用。采用生物信息学手段可推测及验证复方的作用靶点,为解释方剂对疾病治疗的作用机制提供了思路。

[关键词] 生物信息学; 动脉粥样硬化; 基因靶点; 信号通路; 方剂; 益脉颗粒; 阿托伐他汀钙片

[中图分类号] R22;R289;R318;R285;R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)16-0082-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181402

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180425.1742.016.html>

[网络出版时间] 2018-04-26 15:39

Analysis of Mechanism of Yimai Granules in Treatment of Atherosclerosis Based on Bioinformatics

GUAN Le¹, MIN Dong-yu¹, WANG Jun-yan¹, JIU Jun-long¹, YANG Guan-lin^{1*}, WANG Qing-feng^{2*}

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China;

2. College of Grain Science and Technology, Shenyang Normal University, Shenyang 110031, China)

[Abstract] **Objective:** To predict the targets of Yimai granules by bioinformatics, according to the adjustment of target genes, to determine its signaling pathways and the molecular mechanism of Yimai granules. **Method:** Bioinformatics was used to predict the potential regulatory genes of all drugs in Yimai granules. According to the principles of formulating prescription, a Venn diagram was drawn for all target genes of Yimai granules that acted on atherosclerosis (AS), the overlapping genes were defined as target genes. Before and after administration, the hemogram changes of the AS model mice and the corresponding target gene regulation methods

[收稿日期] 20170904(019)

[基金项目] 辽宁省自然科学基金项目(20170540601);国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2013CB531704);辽宁省教育厅项目(L2015334);沈阳市科技计划项目(18-013-0-44)

[第一作者] 关乐,在读博士,主治医师,从事中西医结合心血管研究,E-mail:176916302@qq.com

[通信作者] *杨关林,主任医师,博士生导师,从事中西医结合临床研究,Tel:024-31961556,E-mail:yangguanlin945@gmail.com;

*王庆峰,博士,讲师,从事生物信息学及谷物中药营养学研究,Tel:024-86506860,E-mail:Synuwqf@foxmail.com

were used to determine the mechanism of Yimai granules to improve AS. The experimental group consisted of 60 ApoE^{-/-} mice, they were randomly divided into 5 groups and fed continuously for 12 weeks. Twelve rats in model group were fed with high fat and high cholesterol diet + normal saline by intragastric administration; twelve rats in the high, medium and low dosage groups of Yimai granules were fed with high fat and cholesterol diet + high, medium and low dose of Yimai granules, respectively; twelve rats in the positive group were fed with high fat and high cholesterol diet + atorvastatin calcium tablets. **Result:** Yimai granules can reduce levels of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in mice, and the effect was positively correlated with the dose of Yimai granules. The lowering of TG, TC, LDL-C and HDL-C in the high-dose group of Yimai granules was weaker than those in the atorvastatin calcium tablets group. The targets of Yimai granules included carboxylesterase 1 (CES1), 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMGCR), peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) D, PPARG, liver X receptor- α (LXR- α) and adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette transporter A1 (ABCA1). **Conclusion:** Yimai granules can activate the corresponding signaling pathway by up-regulating the expression of target genes of CES1, HMGCR, PPARD, PPARG, LXR- α and ABCA1, so as to achieve the therapeutic effect on AS. Bioinformatics can be used to predict and verify the action targets of formulas, which can provide a method to explain the mechanism of clinical formulas.

[**Key words**] bioinformatics; atherosclerosis; gene target; signaling pathway; formulas; Yimai granules; atorvastatin calcium tablets

随着方剂研究的深入及现代分子生物学的发展,现对方剂学的作用机制研究,往往以临床效果为先导,再引入分子生物学信息,从而确定方剂治疗疾病的路径^[1]。随着现代分子药理学及生物信息学的发展,针对多靶点、多通路方剂学研究得以实现^[2]。特别是基因组学的快速发展,大大加速了方剂学的作用机制研究^[3]。然而,如何快速建立起方剂作用的潜在靶点,并根据靶点的作用信号通路,确认该药物的作用机制,是未来方剂学研究的重要路径之一。

益脉颗粒是辽宁中医药大学附属医院长期使用的院内制剂,该方由四君子汤化裁而成^[4],由黄芪、党参、白术等 9 味中药组成。全方以健脾益气为本,兼具祛痰化瘀之效,标本兼治,使脾健而痰瘀自清。该制剂对血脂具有较好的调节作用,能够改善机体动脉粥样硬化(AS)状态,经过辽宁中医药大学附属医院大量的临床经验总结,其治疗效果良好,但现有研究对其作用的分子机制尚不明确。为了分析益脉颗粒的作用机制,本实验拟采用生物信息学手段对该组方内的全部药物可能调控的基因进行预测;根据药物的君、臣、佐、使,对方内作用于 AS 的靶点基因进行韦恩图绘制,将上述重叠的基因,定义为重要的靶向基因;根据定义的靶向基因,进一步分析其上下游通路对应的基因,确定其响应方式;分析模型小鼠在给药前后机体内环境的变化情况;考察给药前

后基因表达情况,分析其信号通路传导路径,为明确益脉颗粒的作用机制提供实验依据。

1 材料

EG1150H 型组织包埋机, RM2235 型石蜡切片机, CM1850-1-1 型冷冻切片机, HI1220 型烘片机(德国 Leica 公司); TBA-120FR 型全自动生化分析仪(日本东芝), Fresco17 型高速冷冻离心机和 Pico21 型常温离心机(美国 Thermo Scientific 公司), DW-HL388 型超低温冰箱(中科美菱), EnSpire 型酶标仪(美国 PE 公司), Vortex 5 型涡旋振荡器和 TS-2 型摇床(其林贝尔仪器制造有限公司), MG8000 型化学发光成像系统(北京 Thmorgan 生物科技有限公司), 1658001 小型垂直电泳槽(美国 Bio-Rad 公司), VE-186 型转移电泳槽(上海天能科技有限公司)。

益脉颗粒由四君子汤化裁而成,含有炙黄芪、党参、白术、茯苓等药材,方中药材全部由辽宁中医药大学附属医院药剂科提供,经辽宁中医药大学附属医院实验中心刘桂芳教授鉴定,均符合 2015 年版《中国药典》的相关项下要求;由辽宁中医药大学附属医院实验中心进行后续制备,按处方比例称取药材,加 10 倍量水浸泡 2 h,煎煮 3 次,每次 40 min,过滤,合并 3 次滤液,37 °C 水浴加热浓缩,低质量浓度浓缩至 0.12 g · mL⁻¹, 中质量浓度浓缩至 0.36 g · mL⁻¹(临床等效量),高质量浓度浓缩至

1.08 g·mL⁻¹,置 4℃ 冰箱贮存备用。阿托伐他汀钙片(阳性药,辉瑞制药有限公司,小鼠给药剂量为人体参考计量的 10 倍,折算后为 3.33 mg·kg⁻¹·d⁻¹),普通小鼠饲料(辽宁长生生物技术有限公司),高脂高胆固醇饲料(安徽牧洋油脂有限公司,在普通饲料基础上添加 15.0% 猪油),0.25% 胆固醇(河北燕科生物科技有限公司),水为蒸馏水。

甘油三酯(TG)测定试剂盒、总胆固醇(TC)测定试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测定试剂盒及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定试剂盒(四川迈克生物科技股份有限公司,批号分别为 CH0105151,CH0103152,CH0105162,CH0105161),白细胞介素-6(IL-6)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)ELISA 试剂盒(深圳达科为生物技术股份有限公司,批号分别为 DKW12-2060-096,DKW12-2720-096);兔抗鼠羧酸酯酶 1(CES1),兔抗鼠 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGCR),兔抗鼠过氧化物酶体增殖物激活受体 D(PPAR α)和兔抗鼠 PPAR γ (北京方程嘉鸿科技有限公司,批号分别为 C-20154236, HM20160732, δ -201504236, γ -20160406);肝 X 受体 α (LXR- α)(Abcam 公司,批号 PPz0412),三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1)抗体蛋白提取试剂盒(Novusbio 公司,批号 NB400-105SS)。

8 周龄 SPF 级 ApoE^{-/-}小鼠,雌雄各半,体质量(22±2)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2012-0001;12 只同龄具有相同遗传背景的清洁级 C57BL/6J 小鼠,体质量(22±2)g,购自辽宁长生生物技术有限公司,合格证号 SCXK(辽)2010-0001;经辽宁中医药大学附属医院动物伦理委员会伦理审查通过后,于辽宁中医药大学动物房进行饲养及后续的实验研究,批准号 2015CS(DW)-002-01。

2 方法与结果

2.1 造模方法及实验分组 所有小鼠适应性喂养 7 d 后进行实验,空白组 12 只 C57BL/6J 小鼠,普通饮食+生理盐水灌胃。实验组共计 60 只 ApoE^{-/-}小鼠,随机分为 5 组,连续喂养 12 周;模型组 12 只,高脂高胆固醇饮食+生理盐水灌胃;益脉颗粒高剂量组 12 只,高脂高胆固醇饮食+益脉颗粒高剂量灌胃(19.50 g·kg⁻¹·d⁻¹,按生药量计);益脉颗粒中剂量组 12 只,高脂高胆固醇饮食+益脉颗粒中剂量灌胃(9.75 g·kg⁻¹·d⁻¹,按生药量计);益脉颗粒低剂量组 12 只,高脂高胆固醇饮食+益脉颗粒低剂量灌

胃(4.88 g·kg⁻¹·d⁻¹,按生药量计);阳性组 12 只,高脂高胆固醇饮食+阿托伐他汀钙片(3.33 mg·kg⁻¹·d⁻¹)。

2.2 统计学处理 使用 SPSS 18.0 软件进行统计,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用单因素方差分析,并利用最小显著性差异法(LSD)进行组间多重比较,若方差不齐则改用秩和检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2.3 标本取材处理及检测 全部小鼠在给药 12 周后处死(处死前 12 h 禁食禁水)。立即眼球摘除取血 1.0~1.5 mL,血液样本封于离心管中,于 4℃,2 500 r·min⁻¹ 离心 15 min,分离血清,置于 -70℃ 冰箱中保存,待用。

2.3.1 苏木素-伊红(HE)染色 取胸主动脉 1 cm,甲醛固定,逐级脱水、浸蜡、包埋、切片及脱蜡到水,HE 染色,光镜下观察主动脉结构及动脉粥样硬化程度,见图 1。结果发现空白组动脉血管粗细均匀,管壁细胞排列整齐,管壁光滑,无斑块形成,无炎性细胞浸润。模型组血管各部位粗细不均,斑块形成明显,细胞间大量炎性细胞浸润,组织发生炎症反应并伴有内膜明显增厚,肌层组织疏松,部分肌丝断裂。阿托伐他汀钙片组(阳性组)血管各部位粗细不均,管腔内未见斑块,细胞间少量炎性细胞浸润,组织发生炎症反应并伴有内膜增厚,但较模型组薄。益脉颗粒高、中、低剂量组血管各部位粗细不均,管腔内未见斑块,细胞间有炎性细胞浸润,但少于模型组;组织发生炎症反应并伴有内膜增厚,但均较模型组薄,其中益脉颗粒高剂量组的内膜厚度较薄,益脉颗粒低、中剂量组肌层组织较益脉颗粒高剂量组疏松,且有部分肌丝断裂。

2.3.2 益脉颗粒对小鼠血脂水平的影响 运用全自动生化分析仪测定血清脂代谢相关指标(TG,TC,LDL-C,HDL-C)含量,见表 1。结果发现益脉颗粒可有效降低模型小鼠的 TG,TC,LDL-C 及 HDL-C 水平,且呈一定的剂量依赖性。益脉颗粒低剂量组虽可降低小鼠的 LDL-C 水平,但是与模型组相比,并无显著性差异。益脉颗粒高剂量组除了降低小鼠 TG 浓度的效果同阿托伐他汀钙片类似外,阿托伐他汀钙片对小鼠 TC,LDL-C 及 HDL-C 水平的降低效果均优于益脉颗粒高剂量组。提示益脉颗粒可显著性降低 AS 小鼠的血脂水平,从而降低 AS 发病的风险。虽然经过药物治疗后小鼠的 TG,TC,LDL-C 及 HDL-C 水平均呈现出一定程度的降低,但是同空白组相比,仍然较高($P < 0.05$)。

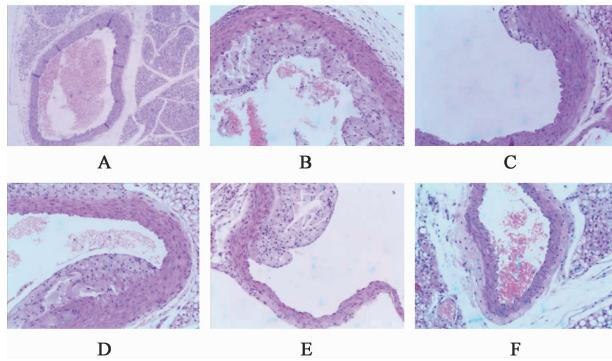


图 1 不同处理方式对 AS 模型小鼠心血管的影响 (HE, ×200)
A. 空白组; B. 模型组; C. 益脉颗粒高剂量组; D. 益脉颗粒中剂量组; E. 益脉颗粒低剂量组; F. 阿托伐他汀钙片组

Fig.1 Effect of different treatments on myocardial vascular of AS model mice (HE, ×200)

表 1 益脉颗粒对小鼠血脂水平及炎症指标的影响

Table 1 Effect of Yimai granules on serum lipid levels and inflammatory markers of AS model mice

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	TG /mmol·L ⁻¹	TC /mmol·L ⁻¹	LDL-C /mmol·L ⁻¹	HDL-C /mmol·L ⁻¹	TNF-α /μg·L ⁻¹	IL-6 /μg·L ⁻¹
空白	-	0.99 ± 0.14	2.51 ± 0.15	0.34 ± 0.09	0.84 ± 0.21	35.88 ± 3.83	276.34 ± 20.60
模型	-	3.50 ± 1.21	22.11 ± 1.97	3.06 ± 0.24	6.91 ± 1.02	202.86 ± 15.80	655.92 ± 23.59
益脉颗粒	4 880	3.56 ± 0.16	15.03 ± 1.38	2.94 ± 0.36	4.29 ± 0.81	157.55 ± 7.40	521.41 ± 21.37
	9 750	2.76 ± 0.14	10.59 ± 0.78	1.98 ± 0.16	2.94 ± 0.33	122.65 ± 8.90	454.43 ± 24.26
	19 500	1.71 ± 0.10	8.41 ± 0.89	1.34 ± 0.07	2.21 ± 0.27	74.79 ± 6.06	354.48 ± 15.36
阿托伐他汀钙片	3.33	1.64 ± 0.08	6.82 ± 1.11	1.23 ± 0.12	2.07 ± 0.36	71.69 ± 7.31	367.99 ± 11.54

药物已报道的有效成分;②根据现有的文献报道,在 PubChem 数据库中检索本方剂内所有有效成分的靶基因,并进一步根据美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 及 Gene 数据库所报道的基因,交叉对比同 AS 相关的基因。综合各药味有效成分药理活性的报道,推测出潜在的作用靶点。③对获得的靶点制作韦恩图,确定同 AS 相关程度较高的作用靶点。根据益脉颗粒的组方构成,经过分析,本方所获得的潜在重叠基因靶点共计 235 个,进一步对上述 235 个基因靶点进行交叉分析,确定与 AS 发病相关的基因共计 18 个,见表 2。其中,各药味之间全部重叠的基因靶点共计 4 个,分别为 CES1, HMGCR, PPARD 及 PPARG。

2.5 主动脉内预测靶点的表达 取小鼠的胸主动脉,向其中加入蛋白裂解液。以 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒对蛋白进行定量。每泳道上样 50 μg,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 处理后,电转膜至聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜,加入 1:1 000 兔抗鼠, CES1, HMGCR, PPARD, PPARG 及

2.3.3 益脉颗粒对小鼠炎症指标的影响 根据 ELISA (依据试剂盒操作进行) 测定血清 IL-6 和 TNF-α 的水平,见表 1。结果发现 AS 小鼠体内的炎症指标变化同血脂变化呈现了相似的趋势。即随着益脉颗粒用量的上升,其 TNF-α 及 IL-6 水平均呈下降趋势。益脉颗粒高剂量组的 TNF-α 及 IL-6 水平与阿托伐他汀钙片组比较无统计学意义。提示益脉颗粒在高浓度下对血管内炎症的缓解能力与阿托伐他汀钙片类似。

2.4 益脉颗粒的作用靶向基因预测 全部预测工作由沈阳创东数据处理有限公司进行。根据益脉颗粒的方解,将其分解为君臣佐使四部分。①依据成分-靶点-信号通路/作用疾病的原则,整理出全部

表 2 益脉颗粒的预测作用靶点

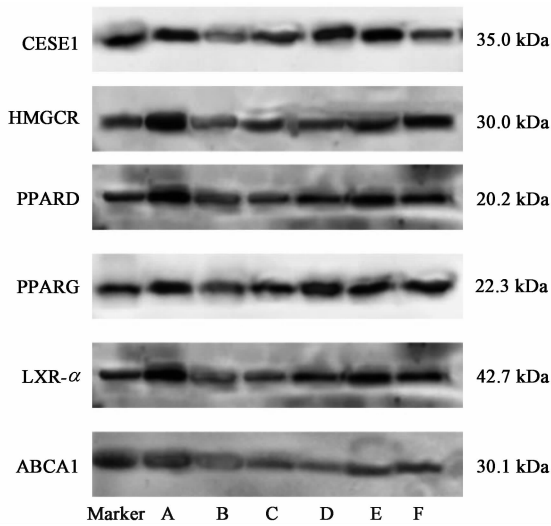
Table 2 Predicted targets of Yimai granules

药味	基因
君药	ALOX15, ALOX15B, CAV1, CCL2, CES1, HMGCR, HMOX1, MMP9, MPO, NR1H2, NR1H3, PPARD, PPARG
臣药	CCL2, CES1, HMGCR, MPO, PPARD, PPARG, MTTP
佐药	ALOX15, ALOX15B, CAV1, CCL2, CES1, HMGCR, HMOX1, MMP9, MPO, NR1H2, NR1H3, PPARD, PPARG, MTTP, SCARB1
使药	CES1, HMGCR, HMOX1, PPARD, PPARG, MTTP, CETP, CYBB, NCF1

注:君药为黄芪及党参,臣药白术及半夏等,佐药包括瓜蒌及茯苓,使药为炙甘草。

ABCA1,在 4 ℃ 环境下,封闭过夜, TBST 缓冲液洗涤 3 次,每次 10 min,加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗兔二抗,孵育 1 h,再用 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,按照试剂盒说明书混合发光液 A 和 B,与膜作用 5 min 后,使用化学发光成像系统进行曝光。利用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值,按照目的基因灰度值/内参 β-肌动蛋白 (β-actin) 灰度值作为蛋

白含量,定义空白组内目的基因的蛋白质量为 100 μg ,计算其他各组目的基因的蛋白质量,见图 2。



A. 空白组;B. 模型组;C. 益脉颗粒低剂量组;D. 益脉颗粒中剂量组;E. 益脉颗粒高剂量组;F. 阿托伐他汀钙片组(图 3 同)

图 2 益脉颗粒对小鼠心血管靶向蛋白变化的影响

Fig. 2 Effect of Yimai granules on changes of cardiovascular targeting protein in mice

由图 2 可知,AS 小鼠体内 *CESE1*, *HMGCRC*, *PPARD*, *PPARG*, *LXR- α* 及 *ABCA1* 的表达均随益脉颗粒的干预出现了一定程度的上调,且上调的水平与益脉颗粒的给药剂量呈正比。除了 *CESE1*,阿托伐他汀钙片均显著上调了其他基因在小鼠体内的表达,该组内的 *CESE1* 表达同模型组相似。为进一步确定靶向基因在整个实验过程中的变化情况,取各组不同基因的表达量(灰度值)的平均进行热图制作,见图 3。结果发现益脉颗粒对小鼠的 *CESE1*, *PPARD*, *PPARG* 及 *LXR- α* 的上调效果随给药剂量的增加而增加,且同模型组相比,均有统计学差异 ($P < 0.05$);益脉颗粒虽可上调小鼠的 *HMGCRC* 和 *ABCA1* 表达,但是相较于模型组,益脉颗粒低、中剂量组的上调效果并不明显,无统计学差异。除 *CESE1* 外,阿托伐他汀钙片组内 *HMGCRC*, *PPARD* 及 *ABCA1* 的表达均显著高于益脉颗粒高剂量组 ($P < 0.05$),而 *PPARG* 及 *LXR- α* 的表达则同益脉颗粒高剂量组类似。

3 讨论

益脉颗粒在四君子方基础上加以化痰祛瘀之品,增强全方化痰祛瘀功效的同时,更彰显健脾助运之功效,诸药合用,使脾健而痰瘀自清。本研究以小鼠为模型,对其血脂水平及炎症参数进行考察,证明

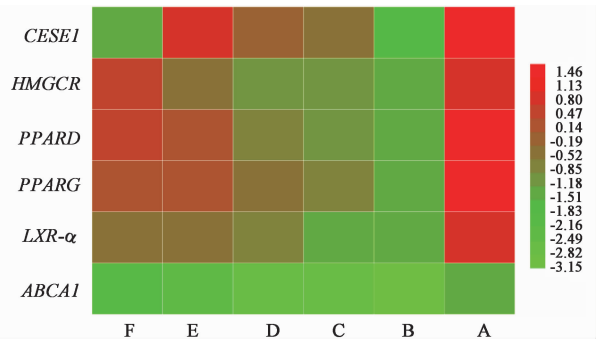


图 3 不同给药处理对靶向基因表达情况的影响

Fig. 3 Effect of different treatments on expression of cardiovascular targeting gene in mice

该制剂可有效改善小鼠机体内环境的变化情况。益脉颗粒可大幅降低小鼠的血脂水平,亦可有效降低 *TNF- α* 及 *IL-6* 等炎症指标的水平,提示其可通过抑制血管炎症的方式实现对 AS 的治疗作用^[5]。而小鼠的血管解剖学结果也表现,益脉颗粒可有效缩小 AS 板块的大小。不论是从预防还是治疗方面,益脉颗粒均可有效控制 AS 的症状。

本研究还对益脉颗粒的作用机制进行了分析。根据生物信息学的结果,选择了 *CESE1*, *HMGCRC*, *PPARD*, *PPARG* 为靶点基因,并进一步预测 *LXR- α* 及 *ABCA1* 基因,推测该制剂可通过 *PPAR- γ* /*LXR- α* /*ABCA1* 的信号通路影响 AS 的发病。根据实验结果可知,益脉颗粒除了可有效下调 *CESE1* 的表达及上调 *HMGCRC*, *PPARD*, *PPARG* 的表达外,还可通过上调 *PPARG* 下游的 *LXR- α* /*ABCA1* 基因的表达,最终实现对 AS 的治疗作用。通过靶向基因可确定益脉颗粒的作用机制包含:①羧酸酯酶路径,通过激活巨噬细胞的胆固醇逆向转运功能(RTC)实现^[6]。②*HMGCRC*路径,作为胆固醇合成途径的限速酶^[7],降低血液中胆固醇的含量,以达到防治动脉粥样硬化等疾病。③*PPARD*路径,同其他过氧化物酶体增殖物激活受体的功能类似,PPARD 活化抑制了脂多糖或 γ -干扰素(*INF- γ*)的敏感基因,从而引起巨噬细胞的抗感染作用,最终改善 AS 的症状^[8]。④*PPARG*路径,主要通过通过对 *PPAR- γ* /*LXR- α* /*ABCA1* 信号通路介导的细胞内胆固醇外流,调控巨噬细胞脂质累积^[9-10]。

阿托伐他汀钙片组的 *CESE1* 表达量却并未相应降低,说明阿托伐他汀钙片并无上调体系内 *CESE1* 的功能,其限制 AS 机制主要是通过对 *HMGCRC* 的抑制,并无巨噬细胞的 RTC 路径^[11]。而益脉颗粒除了可以上调 *CESE1* 的表达量外,还可上调 *HMGCRC*,

PPARD,PPARG 的表达,实现和阿托伐他汀钙片相似的作用。但他汀类的药物会导致多种毒副作用^[12-13]。虽然益脉颗粒对 HMGCR 的表达上调能力有限,但是其还可通过 RTC 路径来降低胆固醇含量,提示益脉颗粒可通过多路径协同作用来降低血液内的胆固醇含量。本研究运用生物信息学手段对方剂进行研究,预测与筛选出了靶向基因,从分子生物学层面,快速预测了传统方剂的作用机制,可为其他方剂的相关研究提供参考。

[参考文献]

[1] 吴红彦,荣倩倩,李海龙,等. 当归贝母苦参丸含药血清对胃癌细胞 SGC-7901 抑制作用机制的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(2):137-141.

[2] 李立,赵静,王雪飞,等. 麻杏石甘汤防治甲型 H1N1 流感分子机制的生物信息学分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(13):346-350.

[3] 宋为民,王明艳,徐力. 基因组学是中医现代化的最佳切入点[J]. 南京中医药大学学报,1999,15(4):193-195.

[4] 姜华,姜玉姬. 3 种中药复方血清对脂多糖诱导的人脐静脉内皮细胞炎症因子 LOX-1、TNF- α 、VCAM-1 和 ICAM-1 表达的影响[J]. 中国动脉硬化杂志,2015,23(10):985-988.

[5] 郭寻竹,宋丽萍. 兔动脉粥样硬化模型血清 TNF- α 与斑块内细胞凋亡的相关性研究[J]. 解放军医学院学报,2014,35(2):174-177.

[6] Lewis G F, Rader D J. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport [J]. Circ Res, 2005, 96(12):1221-1232.

[7] 贾连群,陈文娜,赵秋宇,等. 化痰祛痰方药对动脉粥样硬化模型小鼠肝脏胆固醇代谢相关基因表达调控的影响[J]. 中华中医药杂志,2014,29(1):214-218.

[8] Welch J S, Ricote M, Akiyama T E, et al. PPAR γ and PPAR δ negatively regulate specific subsets of lipopolysaccharide and IFN- γ target genes in macrophages [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(11):6712-6717.

[9] 祝骥,许颖龄,卢德赵,等. 复方丹参片对颈动脉粥样硬化兔 PPAR- γ /LXR- α /ABCA1 信号通路的影响[J]. 中国现代应用药学,2016,33(12):1503-1507.

[10] 梁立荣,武阳丰. PPAR5 与代谢综合征和动脉粥样硬化关系的研究进展[J]. 心血管病学进展,2008,29(1):41-44.

[11] Roy A, Jana M, Kundu M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors bind to PPAR α to upregulate neurotrophin expression in the brain and improve memory in mice [J]. Cell Metab, 2015, 22(2):253-265.

[12] Bełtowski J, Wójcicka G, Jamroz-Wiśniewska A. Adverse effects of statins-mechanisms and consequences [J]. Curr Drug Saf, 2009, 4(3):209-228.

[13] Marcoff L, Thompson P D. The role of coenzyme Q10 in statin-associated myopathy: a systematic review [J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 49(23):2231-2237.

[责任编辑 刘德文]