

· 数据挖掘 ·

基于生物信息学的桂枝芍药知母汤治疗 RA 的作用机制

郑美思, 江启煜*, 赵琦瑶, 杨小静, 江颖, 周永添

(广州中医药大学, 广州 510405)

[摘要] **目的:**运用生物信息学分析方法探究桂枝芍药知母汤(GZSYZMT)治疗类风湿性关节炎(RA)的潜在作用机制。**方法:**利用中药综合数据库(TCMID), 草药成分靶点数据库(HIT), 台湾中药数据库(TCM Database@ Taiwan)查找 GZSYZMT 中每味中药的活性成分及其靶蛋白, 从国家生物技术信息中心(NCBI)获取 RA 的相关靶点基因; 将上述数据集导入装载 ReactomeFIViz app 5 插件的 Cytoscape 3. 2. 1 软件, 分别构建 GZSYZMT 分子相互作用网络和 RA 靶点相互作用网络, 分析其生物学过程和生物学功能; 对比分析两者的分子网络和主要生物学过程, 结合相关生物学信息探讨 GZSYZMT 治疗 RA 的作用机制。**结果:**GZSYZMT 和 RA 的生物学过程和功能均与免疫反应、炎症反应、细胞信号转导、细胞增殖与凋亡相关; 共同交联靶分子包括 IL-2, HRAS, IL-6, CD14, CD40, PRKCB, BTK 等 37 个, 共同生物学通路包括 toll-like receptor signaling pathway, NF- κ B signaling pathway, MAPK signaling pathway, TNF signaling pathway, NOD-like receptor signaling pathway 等 35 对。**结论:**基于生物信息学的分析方法可预测 GZSYZMT 治疗 RA 的作用机制; GZSYZMT 可能通过调控 IL-2, HRAS, IL-6, CD14, CD40 等多个靶点, TLR-NF- κ B 信号通路, TLR-MAPKs 信号通路, TNF 信号通路, NLR 信号通路等多个途径发挥治疗 RA 的作用。

[关键词] 生物信息学; 桂枝芍药知母汤; 类风湿性关节炎; 作用机制

[中图分类号] R285; R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)10-0195-06

[doi] 10. 13422/j. cnki. syfjx. 2017100195

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170307.1618.018.html>

[网络出版时间] 2017-03-07 16:18

Mechanism of Guizhi Shaoyao Zhimu Tang in Treatment of Rheumatoid Arthritis Based on Bioinformatics

ZHENG Mei-si, JIANG Qi-yu*, ZHAO Qi-yao, YANG Xiao-jing, JIANG Yin, ZHOU Yong-tian

(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanism of Guizhi Shaoyao Zhimu Tang (GZSYZMT) in the treatment of rheumatoid arthritis (RA) using bioinformatics. **Method:** Traditional Chinese Medicine Integrative Database (TCMID), Herbal Ingredients' Target Database (HIT), and TCM Database@ Taiwan were retrieved to obtain active components and target proteins of GZSYZMT, and national center for biotechnology information (NCBI) was retrieved for genes related to RA. The above proteins and genes were imported into Cytoscape 3. 2. 1 to respectively build the molecular interaction networks and make analysis of biological processes and biological functions. The networks and biological processes of GZSYZMT and RA were compared, and the mechanism of GZSYZMT in treating RA was discussed on the basis of relevant literatures. **Result:** Both of biological process and function of GZSYZMT and RA were associated with immune response, inflammatory reaction, cell signal transduction, cell proliferation and apoptosis. The number of the common targets of interaction networks of

[收稿日期] 20161207(009)

[基金项目] 广东省大学生创新创业训练计划项目(201610572071)

[第一作者] 郑美思, 从事中医药基础研究工作, Tel:18813751019, E-mail:2036007516@qq.com

[通讯作者] * 江启煜, 硕士, 讲师, 从事生物信息学研究工作, Tel:13660765137, E-mail:jiangqiyu@gzucm.edu.cn

GZSYZMT and RA was 37, including IL-2, HRAS, IL-6, CD14, CD40, PRKCB, BTK; the common biological pathways were 35 pairs, including toll-like receptor signaling pathway, NF- κ B signaling pathway, MAPK signaling pathway, TNF signaling pathway, NOD-like receptor signaling pathway. **Conclusion:** Analysis method based on bioinformatics can predict the action mechanism of GZSYZMT in the treatment of rheumatoid arthritis (RA). GZSYZMT shows an effect in treating RA by regulating IL-2, HRAS, IL-6, CD14, CD40, and TLR-NF- κ B signaling pathway, TLR-MAPKs signaling pathway, TNF signaling pathway and NLR signaling pathways.

[**Key words**] bioinformatics; Guizhi Shaoyao Zhimu Tang; rheumatoid arthritis; action mechanism

桂枝芍药知母汤(GZSYZMT)出自《金匮要略·中风历节病脉证并治》篇,具有祛风除湿,温经散寒,滋阴清热之功效,临床用于治疗类风湿性关节炎历史悠久,获效良好^[1]。类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)属中医“痹证”,“历节病”范畴,是一种以关节滑膜炎为特征的慢性全身性自身免疫性疾病,其发生机制及其药物治疗学一直是医学领域的热点话题^[2]。因此,探索如何挖掘GZSYZMT治疗RA的多靶点、多通路作用机制,对RA的临床治疗和中医药药理机制的系统性、微观性研究具有重要意义。目前,许多学者通过动物实验研究初步揭示了GZSYZMT的部分药理作用,如房莉萍^[2]发现该方可稳定免疫系统的平衡作用,李颂华等^[3]发现该方可抑制滑膜细胞过度释放细胞因子和炎症介质;尽管如此,现有研究尚不能明确阐释其治疗RA的作用机制,且局限于“单疾病-单基因-单靶点”的“线性”模式,忽略了多基因、多靶点在疾病治疗中的调节作用。基于此,本研究从中医整体观念出发,基于GZSYZMT与RA两者的生物信息学数据进行靶分子相互作用网络与生物通路对比分析,从宏观到分子水平系统阐释GZSYZMT治疗RA的多靶点、多通路作用机制,以此进一步揭示桂枝芍药知母汤治疗RA的生物学基础。本研究以中医整体观念和系统生物学理论为基点,将先进的生物信息学方法运用于中医药机制研究领域,系统揭示了中药复方的微观效应,为探究中药复方的药理机制研究提供新方法。

1 材料和方法

1.1 建立桂枝芍药知母汤生物信息数据集 利用中药综合数据库(TCMID, <http://www.megabionet.org/tcmid/>), 草药成分靶点数据库(HIT, <http://lifecenter.sgst.cn/hit/>), 台湾中药数据库(TCM Database@Taiwan, <http://tcm.cmu.edu.tw/>)权威在线中药数据库查找GZSYZMT中每味中药的化学成分;在TCMID, HIT数据库中查找化学成分对应的靶点及其Symbol号。合并方中所有中药的化学成分对

应的靶点,并去除重复的靶点,即得GZSYZMT靶点集。将中药名及其对应的化学成分,靶点名称,Symbol整合成Excel文件,即得GZSYZMT生物信息数据集。

1.2 获取类风湿性关节炎的人类基因靶点集 从国家生物技术信息中心(NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/gquery>)检索“Rheumatoid Arthritis”,在“Gene”数据库中检索得到RA人类基因;从GeneCards数据库(<http://www.genecards.org/>)中检索“Rheumatoid Arthritis”,并获取高Score值的相关基因。上述两者合并得到RA人类基因靶点集,导出这些基因,并将这些靶蛋白的Symbol, Gene ID录入到Excel中。

1.3 分别构建桂枝芍药知母汤的分子相互作用网络, RA靶点的分子相互作用网络, 并分析其生物学过程和生物学功能 利用装载ReactomeFIViz app 5插件的Cytoscape 3.2.1软件, 分别导入所得的2 806个GZSYZMT靶点集, 318个RA相关靶点集。Cytoscape软件是用于分子相互作用网络和生物通路可视化的开源软件平台, 基于复杂网络理论把大量不同分子间的相互作用连接成分子相互作用网络, 提供了数据集成、分析、可视化等基本功能^[4]; 其理论基础复杂网络理论是以社会网络(如疾病传播网、科研论文引用网、科学家合作网等), 技术网(如万维网等), 生物网(如食物网、代谢网、蛋白相互作用网等)等现实网络为研究对象, 通过图论、统计学、统计物理、计算机模拟等方法, 研究网络的结构特征、结构与功能的关系、网络的生成机制及网络演化规律等一系列的问题^[5]; 本研究以复杂网络中的蛋白相互作用网络为研究对象, 通过生物网络的对比分析探索中医药发挥治疗作用的机制。ReactomeFIViz(也称为Reactome Cytoscape的插件或ReactomeFIPlugin, <http://apps.cytoscape.org/apps/reactomefiplugin>)作为Cytoscape的插件之一, 可通过访问储存在Reactome数据库中的生物通路和由超过人类50%的靶蛋白生成的靶点网络, 结合Cytoscape可视化功能, 利用Fisher精确检验进行基因的通路富集分析, 展现基因生物功能^[6]。其进行

通路富集分析遵循的超几何算法为^[7]：

$$P = \frac{\binom{a+b}{a} \binom{c+d}{c}}{\binom{n}{a+c}}$$

其中 n 为基因总数, a 为待分析的基因集中的基因数目, b 为将要考察的生物通路所注释(包含)的基因数目, c 为基因总数去除待分析的基因集以外的基因数目, d 为要考察的生物通路所注释(包含)的基因数目去除与待分析的基因集重合的基因数目。 $\binom{a+b}{a}$ 表示在 $a+b$ 个基因中抽取 a 个基因的不同方法的数目, 其余类似。通过 Bonferroni 校正之后, 得到 correct P 值。 P 值越小, 说明待分析的基因集越富集于要考察的那个生物通路中。

Cystoscape 3.2.1 软件作为可视化网络生成工具, 基于与其关联的数据库中的各个靶分子间的相互作用关系, 以各靶分子作为网络节点, 利用不同类型的连接符号实现输入靶分子间的相互连接, 由此生成分子相互作用网络图。该软件中的 Fetch FI annotations 功能即利用此原理实现相互分子作用网络的可视化。首先输入 GZSYZMT 和 RA 的相关靶点, 利用软件中的 Fetch FI annotations 功能分别生成 GZSYZMT 分子相互作用网络, RA 靶点的分子相互作用网络, 根据网络中靶点 degree 值选取两个网络中的关键靶点 (degree 值, 节点连接度, 是指与该节点相关联的边的条数, 定义 $p(k)$ 为网络中度数为 k 的节点个数占总节点数的比例, 在实际研究中一般采用累加度分布函数的方式描述节点的度分布:

$$p(k) = \sum_{k'=k}^{\infty} p(k') \quad [5]$$

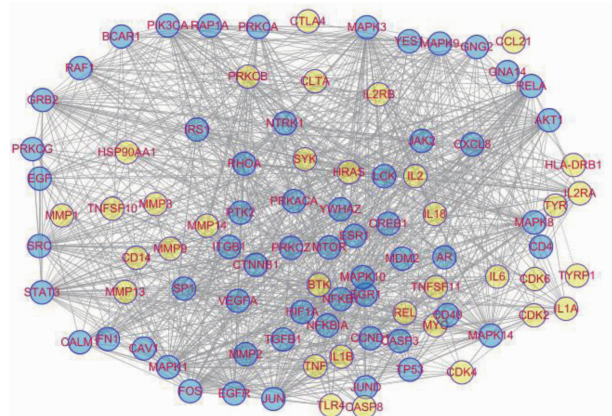
利用 Analyze network functions 功能对分子相互作用网络进行生物学过程、生物学功能富集分析, 设置 P -value, $FDR < 0.001$ (P -value: 当原假设为真时所得到的样本观察结果或更极端结果出现的概率, 越小表明结果越显著; FDR : 错误拒绝真的原假设的个数占所有被拒绝的原假设个数比例的期望值, 越小表明结果越显著), 富集过程分别选择生物学过程 (biological progress), 分子功能 (molecular function), 细胞组分 (cell component)。

1.4 获取 GZSYZMT 与 RA 分子相互作用网络的交联靶分子及共同的生物学过程 根据 degree 值大小分别提取 GZSYZMT, RA 的分子相互作用网络中的关键靶点, 进行对比分析后获得交联靶分子。根据 P -value, FDR 值筛选 GZSYZMT, RA 主要的生物

学过程并进行对比分析, 发现其中共同生物学过程。**1.5 探讨 GZSYZMT 治疗 RA 的作用机制** 检索 GZSYZMT, RA 的交联靶分子及共同生物学过程的生物学信息, 据此二次选取两者关系最为密切的交联靶分子和生物学通路, 系统阐释桂枝芍药知母汤治疗 RA 的作用机制, 并进行相关文献追溯验证。

2 结果

2.1 GZSYZMT 的分子相互作用网络及主要的生物学过程和生物学功能 GZSYZMT 分子相互作用网络涉及生物通路共 708 条; 主要的生物学过程富集在 toll-like receptor signaling pathway, innate immune response, adaptive immune response, inflammatory response, positive regulation of DNA replication, positive regulation of cell differentiation, cell-cell signaling 等, 分子功能富集在 transcription factor binding, MAP kinase activity, cytokine activity 等, 细胞组分富集在 plasma membrane, postsynaptic membrane, I- κ B/NF- κ B complex, CD40 receptor complex 等; 生物学功能主要与免疫反应、炎症反应、细胞信号转导、细胞增殖与凋亡、基因表达、血管新生、神经信号传导与调节相关。从 GZSYZMT 分子相互作用网络挖掘出关键靶点共 216 个 (degree 值在 40 ~ 202), 由于 GZSYZMT 分子相互作用网络规模较大, 为能较清晰显示, 此处呈现关键靶点网络图中的较高 degree 值靶点构成的分子网络, 见图 1。



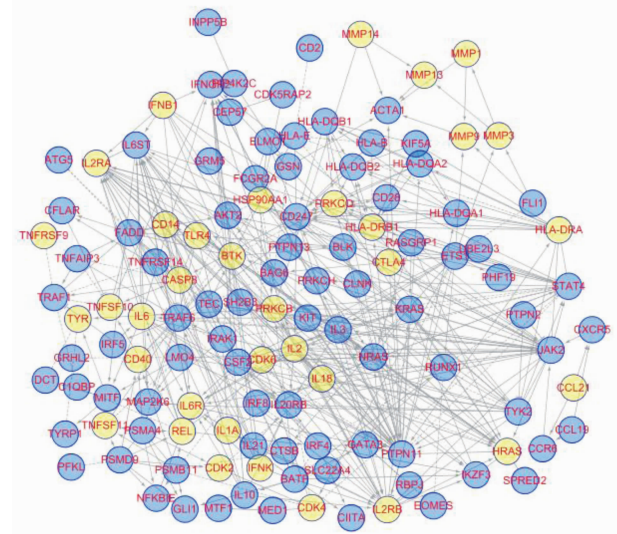
黄色药物靶点为与 RA 分子网络的共同靶点

图 1 GZSYZMT 关键靶点相互作用网络 (仅显示其中的高 degree 值靶点)

Fig.1 Interaction network of key targets of GZSYZMT (only show targets with high degree)

2.2 RA 靶点的分子相互作用网络及主要生物学过程和生物学功能 RA 靶点的分子相互作用网络涉及生物通路 181 条; 生物学过程主要富集在 immune response, cytokine-mediated signaling

pathway, inflammatory response, toll-like receptor signaling pathway, mast cell differentiation, apoptosis signaling pathway 等, 分子功能富集在 cytokine activity, TNF receptor binding, death effector domain binding 等, 细胞组分富集在 cytosol, extracellular region, external side of plasma membrane 等; 生物学功能主要与免疫反应、炎症反应、细胞信号转导、细胞增殖与分化、细胞凋亡相关。从 RA 靶点的分子相互作用网络中挖掘出关键靶点 (degree 在 10 ~ 34) 共 121 个, 关键靶点网络见图 2。



黄色药物靶点为与 GZSYZMT 分子网络的共同靶点

图 2 RA 关键靶点相互作用网络

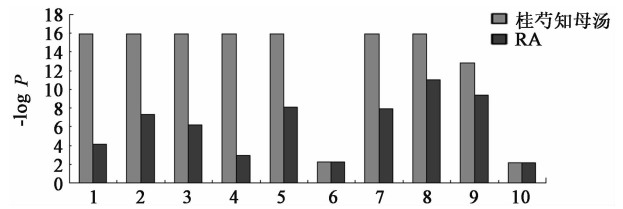
Fig. 2 Interaction network of key targets of RA

2.3 GZSYZMT 与 RA 分子相互作用网络的交联靶分子及共同的生物学过程 本研究共发现 GZSYZMT 与 RA 的分子相互作用网络的交联靶分子共 37 个: TLR4, HRAS, BTK, HLA-DRB1, HLA-DRA, JAK2, TNF, TNFSF10, TNFSF11, IL-1A, IL-1B, IL-2, IL-6, IL-10, IL-18, CD40, CTLA4, REL, TRAF2, CCL21, SyK, PRKCB, MMP1, MMP3, MMP9, MMP13, MMP14, IFNB1, TYR, TYRP1, HSP90AA1, CDK2, CDK4, CDK6, CD14, CD40, CASP8。图 1, 2 中的黄色点即为其交联靶分子。

GZSYZMT 与 RA 共同的生物学过程共 35 对, 选取 GZSYZMT 通路的 p 值排列前 10 位的通路进行比较, 如图 3 所示, 通路中的交联靶分子信息如表 1 所示。对比共同通路中的交联靶分子可知 IL-2 (16), HRAS (12), IL-6 (11), CD14 (10), CD40 (10) 出现次数最为频繁, 均达 10 次以上。

3 讨论

RA 作为一种慢性、炎性、系统性的自身免疫性



1. NOD 样受体信号通路; 2. VEGF 信号通路; 3. EGFR 信号通路; 4. MAPK 信号通路; 5. Toll 样受体信号通路; 6. CD8⁺ T cells 下游信号通路; 7. TNF 信号通路; 8. NF- κ B 信号通路; 9. IL-6 介导的信号转导通路; 10. B 细胞受体信号通路

图 3 GZSYZMT 与 RA 生物通路比较

Fig. 3 Comparison of biological pathways between GZSYZMT and RA

表 1 GZSYZMT 与 RA 共同生物学过程中的交联靶分子

Table 1 Cross-linked targets in common biological process of GZSYZMT and RA

通路名称	共同交联靶分子
NOD 样受体信号通路	IL-18, CASP8, HSP90AA1, IL-6
VEGF 信号通路	HRAS, PSMA4, HSP90AA1, PRKCB, JAK2, IL-2
EGFR 信号通路	HRAS, PSMA4, JAK2, IL-2
MAPK 信号通路	HRAS, IL-1A, PRKCB, CD14
Toll 样受体信号通路	TLR4, CD40, CD14, IFNB1
CD8 ⁺ T cells 下游信号通路	HRAS, PRKCB, IL-2
TNF 信号通路	MMP-9, MMP3, TRAF1, CASP8, IL-6
NF- κ B 信号通路	TLR4, BTK, CD40, TNFSF11, TRAF1, CD14
IL-6 介导的信号转导通路	HRAS, BTK, PRKCB
B 细胞受体信号通路	HRAS, BTK, PRKCB

疾病, 免疫紊乱是其主要的发病机制; 由易感基因参与、感染因子及自身免疫反应介导的免疫损伤和修复是 RA 发病及病情演变的基础; 抗原多肽通过抗原提呈细胞激活 T 细胞, 导致其他免疫细胞活化、致炎性细胞因子等炎症介质产生增多, 进而引起滑膜血管增生、炎性细胞浸润、软骨及骨破坏等特征性病理变化^[8]。RA 的发生发展与促炎性细胞因子的产生、免疫细胞的活化、募集、凋亡以及破骨细胞活动密切相关。本研究从以下几点探讨 GZSYZMT 对 RA 的治疗作用机制。

3.1 GZSYZMT 通过调节交联靶分子 IL-2, HRAS, IL-6, CD14, CD40 等的表达发挥治疗 RA 作用 研究发现 IL-2, HRAS, IL-6, CD14, CD40 等高频次交联靶分子。其中, 多效性细胞因子 IL-2 可促使 T 细胞增长, 诱导调节性 T 细胞分化, 尚可增强 NK 细胞杀伤活性, 在免疫系统发挥关键性作用^[9]; 在 RA 的病理过程中, IL-2 起着加重关节滑膜的炎性浸润和损伤的作用^[10]。GTP 酶 HRAS (亦称转化蛋白 p21) 可调节细胞分化, 参与细胞信号转导^[11]; 经研究发现, RA 患者滑膜组织中 HRAS 基因存在数个突变位

点,HRAS 基因表达异常^[12];作为细胞膜上重要的信号转导分子,HRAS 可间接激活 MAPK 等与炎症相关的信号通路,故而可能是 RA 炎症症状的影响因子之一。细胞因子 IL-6 是一种强有力的致炎剂,在全身性炎症性疾病中起着至关重要的作用;在 RA 中是关节破坏的关键因素,目前已研发出针对 IL-6 这一靶点的 RA 治疗药物如 tocilizumab^[13]。表面抗原 CD14 作为共受体与 TLR4,MD-2 一起协同作用介导细菌脂多糖的先天免疫应答^[14],可能在 RA 的感染性发病中发挥重要作用。共刺激因子 CD40 已被发现在各种各样的免疫和炎症反应中必不可少,可介导 T 细胞依赖性的免疫球蛋白类交换^[15];此外研究发现,RA 患者细胞中 CD40 表达增加,CD40 参与的 CD40/CD40L 通路在介导生物体的炎症反应具有关键作用^[16]。另有实验研究表明,GZSYZMT 可改善 RA 的症状,抑制 IL-2 分泌^[10],下调血清中 IL-6 水平^[17]。

因此,高频次交联靶分子 IL-2,HRAS,IL-6,CD14,CD40 与 RA 发病密切相关;GZSYZMT 可能通过调节这些交联靶分子的表达,减轻由这些分子引发的滑膜免疫反应和炎症反应,从而减轻 RA 症状。

3.2 GZSYZMT 通过调控 Toll 样受体通路,NF- κ B 信号通路,MAPKs 信号通路发挥治疗 RA 作用 在本研究中发现,Toll 样受体通路,NF- κ B 信号通路,MAPKs 信号通路为 GZSYZMT 靶点和 RA 靶点的共同显著富集通路,因此这可能是 GZSYZMT 治疗 RA 的主要影响机制之一。实验研究表明,Toll 样受体通路可诱导抗微生物分子、化学趋化因子、细胞因子和共刺激分子的表达,引发针对病原体的特异性免疫应答,是连接天然免疫和适应性免疫应答的桥梁^[18-19],它介导的炎症反应和 RA 的发病相关;GZSYZMT 对 Toll 样受体通路的转导有抑制作用,并可能借此减轻 RA 炎症反应,起到缓解病情的作用^[20]。现有研究表明,核转录因子 NF- κ B 为的 RA 治疗靶标之一,包括:RelA (p65),RelB,c-Rel,NF- κ B₁(p105)和 NF- κ B₂(p100),它与炎症性疾病、自身免疫性和代谢性疾病、癌症相关^[21-22]。进一步的体内和体外实验验证也表明,GZSYZMT 对 RA 的改善作用可能是通过扭转炎症-免疫系统失衡和调节 NF- κ B₂ 通路参与的信号轴来实现的^[23]。MAPK 信号通路已被证实通过多种途径参与细胞增殖、分化及凋亡的调节,并与应激反应、炎症、肿瘤及心血管病等多种疾病密切相关^[24]。而介导 MAPK 信号通路的 MAPK 激酶亦被认为是治疗 RA 的激酶之一,

其中的 p38MAPK 是 RA 影响因子 TNF- α ,IL-1 β ,IL-6 等产生的信号转导通路^[25]。

此外,本研究中也发现 Toll 样受体信号通路,NF- κ B 信号通路,MAPK 信号通路及通路中存在 GZSYZMT 和 RA 的共同关键交联靶分子 TLR4,CD14。因此,Toll 样受体信号通路,NF- κ B 信号通路,MAPK 信号通路与 RA 的发病机制密切相关。GZSYZMT 可能通过调节上述 3 条通路,减轻 RA 病理过程中的促炎效应、趋化作用、免疫反应,从而发挥对 RA 的治疗作用。

3.3 GZSYZMT 通过 TNF 信号通路以及 NLR 信号通路发挥治疗 RA 作用 本研究发现 GZSYZMT 和 RA 的又一共同显著富集通路是 TNF 信号通路以及 NLR(NOD 样受体)信号通路。TNF 是多功能的细胞因子,为 RA 治疗靶标之一,其多效性作用包括:细胞生长、分化、增殖,炎症反应和免疫效应,细胞凋亡和细胞坏死^[26]。不少研究发现,TNF- α 活化白细胞、破骨细胞、内皮细胞和滑膜成纤维细胞,诱导细胞因子、趋化因子、黏附分子以及基质酶的生成,可导致滑膜炎反应和关节破坏^[27]。GZSYZMT 可下调 CIA 大鼠外周血 TNF- α 水平^[6,20],尚可调节 RA 的滑膜细胞凋亡^[28]。TNF 信号通路经 TNF 与 TNFR1 结合而激活,激活的 TNF 信号通路可导致 NF- κ B 核易位和 JNK,p38,AP-1 活化,促使促炎性细胞因子、趋化因子、生长因子和 TNF- α 本身等基因的表达^[29],放大炎症反应和免疫效应。

因此,GZSYZMT 可能通过下调血清 TNF 水平抑制 TNF 信号通路,减少滑膜间的炎症因子和免疫效应因子,以减轻 RA 引起的炎症反应和免疫反应,从而达到治疗 RA 的效果。

此外,在 RA 患者的关节中发现了源于微生物的分子,这些分子可被 NLR(NOD 样受体)识别,引发 NLR 信号通路,从而释放炎性细胞因子,炎性细胞因子促进宿主组织释放损伤相关分子模式(DAMPs)如高迁移率族蛋白 1,热休克蛋白,导致炎症恶性循环型^[30]。这可能是导致 RA 的关节炎机制之一。有实验研究表明,GZSYZMT 可降低 NLRP3 炎性体信号通路炎性因子表达,这可能为 GZSYZMT 的抗炎作用机制之一^[31]。由于 NLR 可引发 NF- κ B 信号通路,MAPK 信号通路,继而触发炎性细胞因子、趋化因子等(TNF- α ,IL-6,IL-8)的转录表达^[27],因此,GZSYZMT 可能通过调控 NLR 信号通路,以此减少炎性细胞因子 IL-6 和 IL-18,趋化因子 TNF- α 等的形成,抑制炎性细胞因子和趋化因

子介导的滑膜免疫和炎症过程。

4 小结

本研究通过多个国际生物信息学数据库获取桂枝芍药知母汤以及类风湿性关节炎(RA)的主要靶点等大量生物化学信息数据,基于 Cytoscape 3. 2. 1 软件分析工具对比分析桂枝芍药知母汤与类风湿性关节炎两者靶点的分子相互作用网络、生物学通路及生物学功能等,结合相关文献验证,探讨桂枝芍药知母汤治疗 RA 的潜在作用机制。由本研究可知桂枝芍药知母汤和 RA 的生物学过程和功能均与免疫反应、炎症反应、细胞信号转导、细胞增殖与凋亡相关;桂枝芍药知母汤可能通过调控 IL-2, HRAS, IL-6, CD14, CD40 等多个靶点, TLR-NF- κ B 信号通路, TLR-MAPKs 信号通路, TNF 信号通路, NLR 信号通路等多个途径发挥治疗 RA 的作用。本研究预测出桂枝芍药知母汤治疗 RA 潜在作用机制,为该经典方的深入实验研究和现代临床应用提供理论依据,也为系统探究中药复方的药理机制提供新方法。

[参考文献]

[1] 何力,沈艳莉. 桂枝芍药知母汤治疗活动期类风湿性关节炎临床研究[J]. 河南中医, 2016, 36(1): 22-23.

[2] 房莉萍. 桂枝芍药知母汤加减对类风湿性关节炎近期疗效观察[J]. 江苏中医, 2000, 21(4): 12.

[3] 李颂华,陈纪藩. 通痹灵对小鼠 II 型胶原诱发性关节炎作用研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 10(6): 275.

[4] Morris J H, Apeltsin L, Newman A M, et al. Cluster maker: a multi-algorithm clustering plugin for Cytoscape [J]. BMC Bioinformatics, 2011, 12(1): 2209-2217.

[5] 孙继佳,蒋健,严广乐,等. 复杂网络理论及其在中医学研究中的应用[J]. 复杂系统与复杂性科学, 2008, 5(2): 55-61.

[6] WU G, Dawson E, Duong A, et al. Reactome FIViz: a Cytoscape app for pathway and network-based data analysis [J]. F1000 Res, 2014, 3: 146.

[7] 李霞,雷健波. 生物信息学[M]. 2版. 上海: 人民卫生出版社, 2015: 223.

[8] 倪伟. 内科学[M]. 9版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 368-369.

[9] LIAO W, LIN J X, Leonard W J. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation [J]. Curr Opin Immunol, 2011, 23(5): 598-604.

[10] 张琦,吴轰,江泳,等. 桂枝芍药知母汤对转基因小鼠胶原诱导性关节炎 CRP、IL-2 的影响[J]. 中医杂志, 2005, 46(11): 854-856.

[11] Ayllón V, Rebollo A. Ras-induced cellular events [J]. Mol Membr Biol, 2001, 17(2): 65-73.

[12] Roivainen A, Jalava J, Pirilä L, et al. H-ras oncogene point mutations in arthritic synovium [J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(9): 1636-1643.

[13] Md Yusof M Y, Emery P. Targeting interleukin-6 in rheumatoid arthritis [J]. Drugs, 2013, 73(4): 341-356.

[14] Kitchens R L. Role of CD14 in cellular recognition of bacterial lipopolysaccharides [J]. Chem Immunol, 1999, 74(10): 61-82.

[15] CHEN J M, GUO J, WEI C D. The association of CD40 polymorphisms with CD40 serum levels and risk of systemic lupus erythematosus [J]. BMC Genet, 2015, 16(1): 121-127.

[16] Chatzigeorgiou A, Lyberi M, Chatzilymperis G, et al. CD40/CD40L signaling and its implication in health and disease [J]. Biofactors, 2009, 35(6): 474-483.

[17] 郭洪涛. 风湿性关节炎诊治规律及桂枝芍药知母方作用机制的生物信息学研究[D]. 上海: 上海中医药大学, 2012.

[18] 常晓彤, 攀晓峰, 王振辉. Toll 样受体信号转导途径研究进展 [J]. 生理科学进展, 2011, 42(5): 340-346.

[19] 杨玉荣, 余锐萍, 梁宏德. Toll-NF- κ B 信号途径及其介导的功能 [J]. 细胞生物学杂志, 2007, 29(4): 483-486.

[20] 王海兰, 何娟, 曹文富, 等. 川芎含药血清对肝星状细胞 Toll 样受体 4 及下游信号因子 MyD88 表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(11): 2191-2194.

[21] Oeckinghaus A, Hayden M S, Ghosh S. Crosstalk in NF- κ B signaling pathways [J]. Nat Immunol, 2011, 12(8): 695-708.

[22] Park M H, Hong J T. Roles of NF- κ B in cancer and inflammatory diseases and their therapeutic approaches [J]. Cells, 2016, 5(2): 15-22.

[23] GUO Q, MAO X, ZHANG Y. Guizhi-Shaoyao-Zhimu decoction attenuates rheumatoid arthritis partially by reversing inflammation-immune system imbalance [J]. J Transl Med, 2016, 14(1): 1-16.

[24] 陈建勇, 王聪, 王娟, 等. MAPK 信号通路研究进展 [J]. 中国医药科学, 2011, 1(8): 32-34.

[25] Macfarlane L A, Todd D J. Kinase inhibitors: the next generation of therapies in the treatment of rheumatoid arthritis [J]. Int J Rheum Dis, 2014, 17(4): 359-368.

[26] Macewan D J. TNF receptor subtype signalling: differences and cellular consequences [J]. Cell Signal, 2002, 14(6): 477-492.

[27] CHEN G, Shaw M H, Kim Y G, et al. NOD-like receptors: role in innate immunity and inflammatory disease [J]. Annu Rev Pathol, 2009, 4(1): 365-398.

[28] GUO Q, MAO X, ZHANG Y, et al. Guizhi-Shaoyao-Zhimu decoction attenuates rheumatoid arthritis partially by reversing inflammation-immune system imbalance [J]. J Transl Med, 2016, 141: 165-180.

[29] Varfolomeev E, Goncharov T, Maecker H, et al. Cellular inhibitors of apoptosis are global regulators of NF- κ B and MAPK activation by members of the TNF family of receptors [J]. Sci Signal, 2012, 5(216): 1618-1619.

[30] Mc Cormack W J, Parker A E, O'Neill L A. Toll-like receptors and NOD-like receptors in rheumatic diseases [J]. Arthritis Res Ther, 2009, 11(5): 1-8.

[31] 房树标, 王永辉, 李艳彦, 等. 基于 NLRP3 炎性体信号通路研究桂枝芍药知母汤对尿酸钠诱导的大鼠中性粒细胞炎性信号表达的影响 [J]. 中国药物与临床, 2016, 16(2): 170-175.

[责任编辑 邹晓翠]